

UNIVERSIDAD CENTRAL DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

**Utilidad de una leche enriquecida en calcio, vitamina D y K₂
en la modificación de los parámetros relacionados con el
proceso de osificación**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Marta Hernández Cabria

Directores

**Francisco Javier López Román
Dolores Barnuevo Espinosa
Luis Rodolfo Collado Yurrita**

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias Médico
Quirúrgicas

Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

*UTILIDAD DE UNA LECHE ENRIQUECIDA EN CALCIO, VITAMINA D Y
K₂ EN LA MODIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON
EL PROCESO DE OSIFICACIÓN*

Marta Hernández Cabria

Directores:

Francisco Javier López Román

Dolores Barnuevo Espinosa

Luis Rodolfo Collado Zurrita

Madrid, 2017

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero expresar mi agradecimiento a los directores de esta tesis doctoral, al Dr. Francisco Javier López Román, Dra. M^a Dolores Barbuena Espinosa y el Dr. Luis Rodolfo Collado Zurrita por su dirección, dedicación y por el apoyo que me han prestado en este trabajo. Quiero agradecerles además, tanto su orientación y atención en todo momento, como todas las facilidades que me han dado.

Al Dr. Javier Morán Rey por sus enseñanzas, por haber confiado en mí y haberme animado desde el primer momento a emprender este proyecto.

También agradezco a mis familiares todo lo que han hecho por mí para permitir que yo me centrara en este trabajo y por el tiempo que me han concedido. Pero, sobre todo, gracias a mi marido y a mi hija, por su paciencia, comprensión y solidaridad; por la ayuda prestada siempre que la necesité, en los buenos y no tan buenos momentos.

Por último, les debo un enorme gracias a mis padres por el apoyo y ánimo constantes en mi vida, por haberme enseñado a ser perseverante siempre en aquellas metas que me he propuesto y por lo más importante, por mis valores morales y afán de superación, heredados de ellos.

ÍNDICE

Abreviaturas	11
1. Resumen	17
2. Abstract	27
3. Introducción	37
1. Anatomía y fisiología del hueso	39
2. Osteopatías metabólicas	49
3. Nutrición y salud ósea	55
4. Nutrición en la peri y menopausia y salud ósea	59
5. La leche como alimento funcional en la prevención de la osteoporosis	62
6. Recomendaciones dietéticas en el tratamiento de la osteoporosis	68
7. Calcio y hueso	70
8. Vitamina D y hueso	78
9. Vitamina K2 y hueso	81
4. Hipótesis	87
5. Objetivos	91
6. Material y métodos	95
1. Fase de desarrollo	97
2. Método de aleatorización	98
3. Técnicas de enmascaramiento	98
4. Población a estudio y número de individuos	99
5. Criterios de selección	99
6. Variables de evaluación	100
6.6.2. Variables densitométricas	100
6.3.3. Variables sanguíneas y urinarias	102
6.6.4. Cuestionario propiedades organolépticas y opinión del consumidor	102
7. Seguimiento de los sujetos	103

8. Consideraciones éticas	106
7. Análisis estadístico	107
1. Manejo de datos	109
2. Análisis descriptivo	109
3. Análisis de la variable principal	109
4. Análisis de las variables secundarias	110
8. Resultados	111
1. Diagrama de flujo	113
2. Análisis descriptivo de las variables evaluadas	114
3. Análisis de eficacia	118
8.3.1. Índice de masa corporal	118
8.3.2. Contenido mineral óseo	120
8.3.3. Densidad mineral ósea	128
8.3.4. T-Score	136
8.3.5. Z-Score	142
8.3.6. Variables urinarias	148
8.3.7. Variables Sanguíneas	152
8.3.8. Resumen e interpretación variables bioquímicas de remodelación ósea	168
8.3.9. Variables organolépticas y opinión del consumidor	172
4. Análisis de seguridad	178
9. Discusión	181
10. Limitaciones del estudio	199
11. Conclusiones	205
12. Imágenes	209
13. Bibliografía	213

ABREVIATURAS

BMP	Proteínas morfogenéticas del hueso
CMO/BMC	Contenido Mineral Óseo
CRD	Cuaderno de recogida de datos
DEXA	Densitometría de Absorciometría de Rayos X de Energía Dual
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEA-S	Dehidroepiandrosterona-sulfato
DPIR	Deoxipiridinolina
DMO/BMD	Densidad Mineral Ósea
DT	Desviación típica
ECU	Ecografía Cuantitativa
ERa	Receptor estrogénico alfa
ERb	Receptor estrogénico beta
FAO	Fosfatasa alcalina ósea
FATR	Fosfatasa ácida tartrato resistente
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico
FNW	Anchura del Cuello del Fémur
FOSHU	Foods for Specific Health Use
GH	Hormona de crecimiento

GM-CSF	Factores estimulante de colonias: granulocíticas-macrofágicas
HAL	Longitud del eje del fémur
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
IFN-g	Interferón gamma
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
IL-4	Interleuquina 4
ILSI	International Life Science Institute
IMC	Índice Masa Corporal
IOM	Instituto de Medicina
LIF	Factor inhibidor de la leucemia
MAPAMA	Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente
M-CSF	Factores estimulantes de colonias Macrofágicas
MK-n	Menaquinonas-n
NAMS	Sociedad Norteamericana de Menopausia
NAS	National Academy of Sciences
NOF	National Osteoporosis Foundation
NTX	Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I
OC	Osteocalcina

OMS	Organización Mundial de la Salud
OPG	Osteoprotegerina
OTP	Osteoporosis
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PGE2	Prostaglandina
PICP	Propéptido carboxiterminal de procolágeno tipo I
PTH-I	Parathormona intacta
PQCT	Tomografía Computarizada Cuantitativa Periférica
RIA	Radioinmunoanálisis
SENC	Sociedad Española de Nutrición Comunitaria
SHBG	Sex hormone-binding globulin
TGF- β	Factor transformante beta
THS	Tratamiento hormonal sustitutivo
TNF- α , TNF- β	Factores de necrosis tumoral
UVAB	Irradiación ultravioleta B

1. RESUMEN

Introducción

La osteoporosis (OTP) es una enfermedad ósea metabólica definida en la Conferencia de Consenso de Hong-Kong (1993) como una enfermedad generalizada caracterizada por una disminución de la masa ósea y una alteración de la microarquitectura del tejido óseo que conduce a un aumento de la fragilidad del hueso y, como consecuencia, a un incremento del riesgo de fractura.

Es denominada por diversos autores como “la epidemia silente” porque se trata de la enfermedad ósea metabólica más prevalente (se estima que en España la padecen más de tres millones de personas), existe un aumento progresivo del número de personas que la padecen y los síntomas no aparecen hasta que se produce la fractura. Su consecuencia principal, la fractura, se acompaña de un aumento de la morbilidad y de las tasas de hospitalización, de un importante gasto sanitario, de un deterioro de la calidad de vida e incluso de un importante impacto en la mortalidad.

La buena alimentación mantenida a lo largo de la vida y en especial en ciertas etapas como la menopausia, previene la aparición de varias enfermedades. Adicionalmente, la mayoría de las enfermedades que se presentan en la menopausia, parten de una alteración metabólica que puede ser susceptible de prevenirse con una dieta sana.

El concepto de una dieta saludable va más allá de la importancia de evitar el consumo excesivo de grasas y carbohidratos. Los beneficios que prestan el calcio y la vitamina D, entre otros, en la prevención de muchos problemas de salud, hacen que se imponga la necesidad de conocer sus acciones y darle un valor a estos nutrientes igual o mayor que a cualquier medicamento. Una dieta balanceada y sana, hace parte del estilo de vida que debe tener la mujer en busca de lograr una mejor calidad de vida. Al tener un mayor conocimiento sobre la importancia de la nutrición en la menopausia, se podrán inculcar en la mujer, hábitos alimentarios más saludables que contribuirán con el mejoramiento de su salud en esta etapa de la vida

Los cambios en el estilo de vida pueden ser la mejor manera de prevenir la osteoporosis.

- Asegurar una suficiente ingesta de calcio en su dieta o mediante suplementos (aproximadamente 1000–1200 mg/por día dependiendo de la edad).
- Ingestión suficiente de vitamina D (400–1.000 IU/por día, dependiendo de la edad).
- Deje de fumar.
- Evite la ingesta de alcohol en exceso.
- Realizar ejercicios con carga de peso.

Con el fin de facilitar la ingesta diaria de calcio y vitaminas D y K2 a través de un alimento como la leche, se ha realizado un estudio que pretende analizar la influencia de la ingesta de distintos preparados lácteos enriquecidos con calcio, vitamina D y vitamina K sobre la masa ósea. Dicho estudio es un ensayo clínico controlado, aleatorizado simple, con 3 ramas paralelas a estudio en función del tipo de producto consumido, enmascarado doble ciego y unicéntrico. La duración total del periodo del estudio fue de 18 meses.

Los sujetos a estudio fueron aleatorizados a una de las 3 ramas del mismo. En función de la rama asignada, el individuo consumió un tipo de leche. Los productos lácteos fueron consumidos durante 18 meses de forma diaria. La ingesta de producto era de 250 ml/día.

Objetivos

- Valorar las modificaciones que se producen en mujeres premenopáusicas al consumir un producto lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, durante dieciocho meses, sobre el componente hormonal regulador del metabolismo óseo.
- Valorar las modificaciones que se producen en mujeres premenopáusicas al consumir un producto lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, de forma diaria durante dieciocho meses, sobre los marcadores osteogénicos del metabolismo óseo.
- Valorar las modificaciones que se producen en mujeres premenopáusicas al consumir un producto lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, de forma diaria durante dieciocho meses, sobre los marcadores osteolíticos del metabolismo óseo.
- Determinar la seguridad de la administración diaria durante 18 meses de un preparado lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K.

Material y Métodos

Ensayo clínico comparativo de tres leches enriquecidas con calcio y vitamina D, paralelo, aleatorizado, doble ciego y unicéntrico.

Se incluyeron 181 mujeres de edades comprendidas entre 30 y 45 años. Estos individuos se dividieron aleatoriamente en tres grupos, cada uno de los cuales consumió diariamente un tipo de leche durante 18 meses. El consumo diario de leche fue de 250 ml.

Cada sujeto fue informado de forma oral y por escrito de la metodología del estudio así como de los posibles efectos indeseables que podrían aparecer como consecuencia de las distintas determinaciones que se realizaron (extracciones sanguíneas, pruebas radiológicas, etc.). De la misma forma fueron informados de la voluntariedad del proyecto tanto en lo referido a su participación como en lo referido al abandono en cualquier momento del mismo. Así mismo, todos fueron conocedores de las características del producto que ingirieron durante 18 meses.

Variables densitométricas

Densitometría de absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA)

Se utilizó un densitómetro radiológico Norland XR-46 de haz lineal (Pencil Beam) DXA (Absorciometría Fotónica Dual).

Utiliza como fuente de rayos X un tubo emisor de ánodo estacionario con refrigeración por aire, con potencial constante de 100 Kv, corriente de ánodo de 1,3 mA y sección de punto focal de 0,5 mm.

Su filtración mínima es equivalente a 2,7 mm de aluminio y presenta dos detectores de rayos X de centelleo de yoduro sódico (Na I) en modo de pulso continuo.

La exactitud es del 1% (basado en fantoma de hidroxiapatita: programa de control de calidad que se realiza a diario para detectar cualquier tipo de fallo que altere la precisión del aparato) y la precisión DMO (evaluada como Coeficiente de Variación-CV-) para el antebrazo, por ejemplo, es de 0,8%.

Los parámetros serán medidos en columna lumbar (L2-L4), cuello de fémur, región trocantérea, y cadera total.

Los parámetros medidos en esta prueba para cada una de las regiones serán:

- Peso (kg).
- Área de estudio (cm²).
- Longitud (cm).
- Contenido Mineral Óseo (BMC) (g): cantidad de hueso mineralizado expresado en gramos.
- Densidad Mineral Ósea (BMD) (g/cm³): cantidad de hueso mineralizado por unidad de volumen; se corresponde realmente con BMA o Bone Mineral Area Mass (cantidad de hueso mineralizado o masa mineral ósea por unidad de área o superficie).

Los valores obtenidos suelen expresarse en forma de Media +/- 2DE (desviaciones estándar).

La Densitometría Ósea, además de medir la densidad mineral ósea (DMO o BMD) de un determinado individuo en términos absolutos y relativos, permite la comparación de ésta con valores de referencia poblacionales mediante las Escalas o Puntuaciones T y Z:

- Escala T (T-Score): la comparación se establece entre la DMO individual y la DMO de adultos jóvenes (20-35 años) y sanos del mismo sexo (se supone que aquí se encuentra el pico de masa ósea o masa ósea máxima). Se expresa en forma de porcentaje y número de desviaciones estándar en que este valor se separa de la media de la DMO de los valores de referencia. Se obtiene a partir de la DMO del paciente menos el valor medio de la DMO en los adultos jóvenes dividido por la desviación estándar de la DMO de los adultos jóvenes del mismo sexo.
- Escala Z (Z-Score): la comparación se establece entre la DMO individual y la DMO de individuos de la misma edad y sexo. Esta puntuación se expresa también en forma de porcentaje y número de desviaciones estándar en que este valor se separa de la media de la DMO de los valores de referencia.

Puntuación Z = $\frac{\text{DMO sujeto} - \text{DMO media para su edad y sexo}}{\text{Desviación estándar de su grupo de edad y sexo}}$

Variables sanguíneas y urinarias

Estos exámenes analíticos descartaron posibles patologías metabólicas y estudiaron marcadores de remodelado o actividad ósea, tanto osteogénicos como osteolíticos, así como ciertas variables bioquímicas relacionadas con el metabolismo óseo.

Variables serológicas de sangre venosa

- Bioquímica Sérica: Creatinina (mg/dl) mediante Método Cinético, Ácido Úrico (mg/dl) mediante Método Enzimático, Calcemia, Fósforo y Magnesio (mg/dl) mediante Método Espectrofotométrico, Fosfatasa Alcalina Ósea (mcg/l) mediante Método Inmunoanálisis y Fosfatasa ácido Tartrato resistente (UI/l) mediante Método Cinético.
- Endocrinología y Nutrición: Osteocalcina (ng/ml) mediante método R.I.A, Vitamina D (1,25 dihidroxicolecalciferol) en (pg/ml) mediante Método R.I.A y Parathormona Intacta en (pg/ml) mediante Método Quimioluminiscencia.

Variables urinarias

Las variables medidas son:

- Telopéptido amino terminal tipo 1 (nmol/ mmol crea) determinada mediante método E.I.A
- Desoxipiridinolina (nmol/ mmol crea) mediante Método E.I.A

Resultados

La remodelación ósea es un proceso dinámico y acoplado en el cual existe una continua destrucción (resorción) del hueso viejo por los osteoclastos y formación de hueso nuevo por los osteoblastos. Está regulada por factores mecánicos, hormonales (PTH, vitamina D, hormonas tiroideas, estrógenos, cortisol, hormona de crecimiento, andrógenos), factores de crecimiento (IGF-I) y citoquinas (IL-1 y IL-6).

La masa ósea se incrementa durante la infancia y la adolescencia alcanzando su máximo valor en la tercera década de la vida. A partir de ese momento se va perdiendo masa ósea lentamente debido a que el proceso de resorción excede al de formación. Esta pérdida lenta de hueso se ve acelerada en enfermedades metabólicas como la osteoporosis.

Los marcadores óseos bioquímicos son un reflejo de este proceso de remodelación y pueden ser medidos en sangre y en orina.

Marcadores de resorción ósea

Pueden medirse como:

- Producto de la síntesis de los osteoclastos:
 - Fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR). Es un marcador poco sensible.
- Productos de degradación de la matriz mineral:
 - Calcio urinario. Es un marcador muy poco sensible.
- Productos de degradación del colágeno:
 - Hidroxiprolina. La mayoría de la hidroxiprolina procede de la degradación del colágeno aunque esta no es su única fuente. Es un marcador que carece de sensibilidad y especificidad para evaluar cambios sutiles en la resorción ósea.

- Enlaces (Crosslinks) de colágeno: piridinolona y desoxipiridinolona. Son aminoácidos que forman puentes de entrecruzamiento que estabilizan cadenas colágenas dentro de la matriz extracelular. Ambas se liberan del hueso debido a la degradación de los osteoclastos. La desoxipiridinolona es más específica que la piridinolona.
- Telopéptidos N terminal de colágeno tipo I (NTx). Son péptidos excretados en orina como resultado de la destrucción del colágeno I por los osteoclastos. Es el marcador de resorción ósea más específico.

Marcadores de formación ósea:

Todos son proteínas sintetizadas por los osteoblastos.

- Fosfatasa alcalina ósea. Los osteoblastos son ricos en fosfatasa alcalina ósea. Es uno de los isoenzimas de la fosfatasa alcalina. Junto con la hepática intestinal y placentaria forman la fosfatasa alcalina total.
- Osteocalcina. Es la mayor proteína no colágena del hueso. Su concentración en suero refleja la actividad osteoblástica. Su incremento en el suero se asocia a la mineralización del hueso pero las concentraciones no son siempre paralelas a las de la fosfatasa alcalina ósea.
- Propéptido carboxiterminal de procolágeno tipo I (PICP). El procolágeno I es una molécula precursora del colágeno tipo I. Su cuantificación da una idea de la velocidad de síntesis del colágeno tipo I. Cualquier tejido que sintetiza colágeno tipo I (hueso, piel) libera propéptidos lo que hace a este marcador menos específico que la osteocalcina o la fosfatasa alcalina ósea.

Resultados de las variables bioquímicas de remodelación ósea.

En las siguientes tablas aparece un resumen de los datos bioquímicos de remodelación ósea y de otras variables bioquímicas.

MARCADORES DE RESORCIÓN			
Variable	Producto	Inicial	Mes 18
Desoxidopiridinolina (nmol/mmol Crea)	Calnat48	6,9 ± 3,8	9,8 ± 23,8
	Caldo B 54	6,1 ± 1,9	8,2 ± 7,2
	Calact60	7,2 ± 3,5	11,2 ± 16,8
Telopéptido amino terminal tipo 1 (nmol/mmol Crea)	Calnat48	34,8 ± 27,1	44,6 ± 30,7
	Caldo B 54	31,7 ± 13,5	44,5 ± 28,5
	Calact60	37,6 ± 12,8	37,7 ± 19,3
Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (UI/l)	Calnat48	1,9 ± 0,45	2,6 ± 0,43**
	Caldo B 54	2,1 ± 0,45	2,6 ± 0,33**
	Calact60	2,0 ± 0,39	2,6 ± 0,34**

Evolución temporal de los marcadores osteolíticos: desoxidopiridinolina, Telopéptido amino terminal tipo 1, Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (media y desviación típica), entre el momento inicial y el mes 18. (* $p < 0,05$ comparado con el estado inicial; ** $p < 0,01$ comparado con el estado inicial).

MARCADORES DE FORMACIÓN			
Variable	Producto	Inicial	Mes 18
Osteocalcina (ng/ml)	Calnat48	6,2 ± 5,5	6,1 ± 2,4
	Caldo B 54	5,5 ± 2	5,5 ± 2,4
	Calact60	6,1 ± 2,2	5,5 ± 3,2
Fosfatasa Alcalina Isoenzima Ósea (mcg/l)	Calnat48	9,3 ± 2,8	8,8 ± 2,3
	Caldo B 54	9,4 ± 2,4	9,5 ± 2,2
	Calact60	10,5 ± 3,6	10 ± 3,1

Evolución temporal de los marcadores osteogénicos: Osteocalcina, Fosfatasa Alcalina Isoenzima Ósea (media y desviación típica), entre el momento inicial y el mes 18. (### $p < 0,01$ comparado con el estado inicial entre los grupos estudio).

Variable	Producto	Inicial	Mes 18
Parathormona Intacta (pg/ml)	Calnat48	31,7±11,1	31,5±11,4
	Caldo B 54	28,5±11,5	32,7±11,2
	Calact60	29,3±13,6	31,1±12,5
Vitamina D (pg/ml)	Calnat48	56,2±20,7	64,1±18,9*
	Caldo B 54	47,7±18,2	60,7±18,9*
	Calact60	55,7±18,9	65,0±24,5**
Calcemia (mg/dl)	Calnat48	9,9±0,6	9,7±0,5
	Caldo B 54	10,1±0,6	9,7±0,5
	Calact60	9,6±1,5	9,5±0,4
Fosfatemia (mg/dl)	Calnat48	3,5±0,6	4,0±0,5**
	Caldo B54	3,2±0,5	4,0±0,5**
	Calact60	3,2±0,4	3,8±0,4**
Magnesemia (mg/dl)	Calnat48	2,1±0,1	2,2±0,3**
	Caldo B 54	2,1±0,1	2,2±0,2*
	Calact60	2,1±0,1	2,2±0,1*

*Evolución temporal de la Parathormona Intacta, Vitamina D , Calcemia, Fosfatemia, Magnesemia (media y desviación típica) entre el momento inicial y el mes 18. (*p<0,05 comparado con el estado inicial; **p<0,01 comparado con el estado inicial).*

En este estudio como variables bioquímicas se ha analizado la desoxipiridinolina urinaria, el telopéptido tipo I del colágeno (NTx) sérico y la fosfatasa ácida tartrato resistente como variables de resorción ósea y la osteocalcina y la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina como variables de formación ósea. En general, no se aprecian modificaciones en las variables del metabolismo óseo durante los 18 meses de consumo de los productos; la única variable que presenta variaciones significativas es la fosfatasa ácida tartrato resistente que se incrementa durante los 18 meses de seguimiento es decir, atendiendo a esta variación se puede afirmar que el consumo de estos productos incrementa los proceso osteolíticos del hueso.

En las variables urinarias no se han encontrado modificaciones en los tres grupos

En cuanto a las variables densitométricas hemos apreciado mejoría en la masa ósea de algunas regiones (columna lumbar) que no se han visto correlacionadas con modificaciones en los marcadores bioquímicos de

remodelación ósea; solamente se ha producido una modificación en una variable osteolítica que, además es poco sensible.

Conclusiones

- Las modificaciones de la masa ósea que produce el consumo de tres preparados lácteos enriquecidos con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, ingerido diariamente durante 18 meses por mujeres premenopáusicas, son similares.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, incrementa la masa ósea de la columna lumbar de mujeres premenopáusicas (mejora el contenido mineral óseo, el coeficiente T-Score y el coeficiente Z-Score, aunque significativamente sólo este último considerando el n total de todos los grupos). No ocurre lo mismo con la región anatómica del cuello y trocánter del fémur
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, no modifica los niveles séricos o urinarios de marcadores osteogénicos y osteolíticos de mujeres premenopáusicas.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, incrementa los niveles séricos de vitamina D de mujeres premenopáusicas.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, es seguro.

2. ABSTRACT

Introduction

Osteoporosis is a metabolic bone disease defined at the Hong Kong Consensus Conference (1993) as a generalized disease characterized by a decrease in bone mass and an alteration of the microarchitecture of bone tissue leading to increased brittleness Bone and, consequently, an increased risk of fracture.

It is called by several authors as "the silent epidemic" because it is the most prevalent metabolic bone disease (it is estimated that Spain suffers more than three million people), there is a progressive increase in the number of people suffering from it and Symptoms do not appear until fracture occurs. Its main consequence, the fracture, is accompanied by an increase in morbidity and hospitalization rates, a significant health expenditure, a deterioration of the quality of life and even a significant impact on mortality.

The good nutrition maintained throughout the life and especially in certain stages like the menopause, prevents the appearance of several diseases. Additionally, most of the diseases that occur at menopause, start from a metabolic alteration that can be susceptible to be prevented with a healthy diet.

The concept of a healthy diet goes beyond the importance of avoiding excessive consumption of fats and carbohydrates. The benefits of calcium and vitamin D, among others, in the prevention of many health problems, make it necessary to know their actions and give a value to these nutrients equal to or greater than any medicine. A balanced and healthy diet is part of the lifestyle that women should have in order to achieve a better quality of life. By having a greater knowledge about the importance of nutrition in menopause, it will be possible to instill in women, healthier eating habits that will contribute to the improvement of their health in this stage of life

Changes in lifestyle may be the best way to prevent osteoporosis.

- Ensure a sufficient intake of calcium in your diet or through supplements (approximately 1000-1200 mg / day depending on the age).
- Sufficient vitamin D intake (400-1,000 IU / per day, depending on age).
- Stop smoking.
- Avoid excessive alcohol intake.
- Perform weight-bearing exercises.

In order to facilitate the daily intake of calcium and vitamins D and K2 through a food such as milk, a study has been carried out to analyze the influence of the intake of different dairy products enriched with calcium, vitamin D and vitamin K On bone mass. This study is a simple randomized controlled clinical trial with 3 branches parallel to study depending on the type of product consumed, double blind and unicentric masked. The total duration of the study period was 18 months.

The subjects under study were randomized to one of the 3 branches of the same. Depending on the assigned branch, the individual consumed one type of milk. Dairy products were consumed for 18 months on a daily basis. The intake of product was 250 ml / day.

Objetives

- To evaluate the modifications that occur in premenopausal women when consuming a dairy product enriched with calcium of different origins, vitamin D and vitamin K, during eighteen months, on the hormonal component regulating the bone metabolism.
- To evaluate the modifications that occur in premenopausal women when consuming a dairy product enriched with calcium of different origins, vitamin D and vitamin K, on a daily basis for eighteen months, on the osteogenic markers of bone metabolism.
- To evaluate the modifications that occur in premenopausal women when consuming a dairy product enriched with calcium of different origins, vitamin D and vitamin K, on a daily basis for eighteen months, on the osteolytic markers of the bone metabolism.
- Determine the safety of the daily administration for 18 months of a dairy preparation enriched with calcium of different origins, vitamin D and vitamin K.

Material and methods

Comparative clinical trial of three milks enriched with calcium and vitamin D, parallel, randomized, double-blind and unicentric.

Thirty-one women aged between 30 and 45 years were included. These individuals were randomly divided into three groups, each of which consumed one type of milk daily for 18 months. The daily consumption of milk was 250 ml.

Each subject was informed orally and in writing of the study methodology as well as the possible undesirable effects that could appear as a consequence of the different determinations that were performed (blood extractions, radiological tests, etc.). In the same way they were informed of the project's voluntariness, both in terms of their participation and in terms of abandonment at any time. Also, all were aware of the characteristics of the product they ingested for 18 months.

Results

Densitometric Variables

Dual Energy X-Ray Absorptiometry Densitometry (DEXA)

A Norland XR-46 linear beam (Pencil Beam) DXA (Dual Photonic Absorptiometry) radiological densitometer was used.

It uses as an X-ray source a stationary anode emitter tube with air cooling, with a constant potential of 100 Kv, anode current of 1.3 mA and a focal point section of 0.5 mm.

Its minimum filtration is equivalent to 2.7 mm of aluminum and it has two x-ray detectors of sodium iodide scintillation (Na I) in continuous pulse mode.

Accuracy is 1% (based on hydroxyapatite phantom: quality control program that is performed daily to detect any type of fault that impairs the accuracy of the device) and DMO accuracy (evaluated as Coefficient of Variation-CV-) For the forearm, for example, is 0.8%.

The parameters will be measured in lumbar spine (L2-L4), femoral neck, trochanteric region, and total hip.

The parameters measured in this test for each of the regions will be:

- Weight (kg).
- Area of study (cm²).
- Length (cm).
- Bone mineral content (BMC) (g): amount of mineralized bone expressed in grams.
- Bone Mineral Density (BMD) (g / cm³): amount of mineralized bone per unit volume; It actually corresponds to BMA or Bone Mineral Area Mass (amount of mineralized bone or bone mineral mass per unit area or surface).

The values obtained are usually expressed as Mean +/- 2DE (standard deviations).

Bone Densitometry, in addition to measuring bone mineral density (BMD or BMD) of a given individual in absolute and relative terms, allows comparison of this with population reference values using Scales or Scores T and Z:

- T-Score: The comparison is established between individual BMD and BMD of young adults (20-35 years) and healthy of the same sex (it is assumed that here the peak of bone mass or maximum bone mass). It is expressed as a percentage and number of standard deviations in which this value is separated from the BMD mean of the reference values. It is derived from the patient's BMD minus the mean value of BMD in young adults divided by the standard deviation of the BMD of young adults of the same sex.
- Z-Score: the comparison is established between individual BMD and BMD of individuals of the same age and sex. This score is also expressed as a percentage and number of standard deviations in which this value is separated from the BMD mean of the reference values.
Score Z = $\frac{\text{BMD subject} - \text{Mean BMD for age and sex}}{\text{Standard deviation for age group and sex}}$

Blood and Urinary Variables

These analytical exams ruled out possible metabolic pathologies and studied markers of bone remodeling or activity, both osteogenic and osteolytic, as well as certain biochemical variables related to bone metabolism.

Serologic variables of venous blood

- (Mg / dl) by Kinetic Method, Uric Acid (mg / dl) by Enzymatic Method, Calcemia, Phosphorus and Magnesium (mg / dl) by Spectrophotometric Method, Bone Alkaline Phosphatase (mcg / l) by Immunoassay Method and Phosphatase Resistant tartrate (IU / l) by Kinetic Method.
- Endocrinology and Nutrition: Osteocalcin (ng / ml) by RIA method, Vitamin D (1,25 dihydroxycholecalciferol) in (pg / ml) by RIA Method and Intact Parathormone in (pg / ml) by the Chemiluminescence Method.

Urinary variables

The variables measured are:

- Amino-terminal tylopeptide type 1 (nmol / mmol creatinine) determined by EIA method
- Deoxypyridinoline (nmol / mmol creatinine) by EIA Method

Results

Bone remodeling is a dynamic and coupled process in which there is continuous destruction (resorption) of old bone by osteoclasts and formation of new bone by osteoblasts. It is regulated by mechanical, hormonal factors (PTH, vitamin D, thyroid hormones, estrogens, cortisol, growth hormone, androgens), growth factors (IGF-I) and cytokines (IL-1 and IL-6).

Bone mass increases during childhood and adolescence reaching its maximum value in the third decade of life. From that moment bone mass is slowly being lost because the process of resorption exceeds that of formation. This slow bone loss is accelerated in metabolic diseases such as osteoporosis.

Biochemical bone markers are a reflection of this remodeling process and can be measured in blood and urine.

Bone resorption markers

They can be measured as:

- Product of osteoclast synthesis:
 - Acid tartrate resistant phosphate (FATR). It is a poorly sensitive marker.
- Mineral matrix degradation products:
 - Urinary calcium. It is a very sensitive marker.
- Collagen Degradation Products:
 - Hydroxyproline. The majority of hydroxyproline comes from the degradation of collagen although this is not its only source. It is a marker that lacks sensitivity and specificity to evaluate subtle changes in bone resorption.
 - Collagen crosslinks: pyridinolone and deoxypyridinoline. They are amino acids that form cross-bridges that stabilize collagen chains within the extracellular matrix. Both are released from bone due to the degradation of osteoclasts. Deoxypyridinoline is more specific than pyridinolone.
 - Telopeptides N-terminal collagen type I (NTx). They are peptides excreted in urine as a result of the destruction of collagen I by the osteoclasts. It is the most specific bone resorption marker.

Markers of bone formation:

All are proteins synthesized by osteoblasts.

- Bone alkaline phosphatase. Osteoblasts are rich in bone alkaline phosphatase. It is one of the isoenzymes of alkaline phosphatase. Together with the intestinal and placental hepatic form the total alkaline phosphatase.
- Osteocalcin. It is the largest non-collagenous protein in bone. Its concentration in serum reflects the osteoblastic activity. Its increase in serum is associated with bone mineralization but the concentrations are not always parallel to those of bone alkaline phosphatase.
- Carboxyterminal propeptide of procollagen type I (PICP). Procollagen I is a precursor molecule of type I collagen. Its quantification gives an idea of the rate of synthesis of type I collagen. Any tissue that synthesizes collagen type I (bone, skin) releases propeptides which makes this marker less specific than Osteocalcin or bone alkaline phosphatase.

Results of the biochemical variables of bone remodeling.

The following tables summarize the biochemical data on bone remodeling and other biochemical variables.

REABSORPTION MARKERS			
Variable	Product	Initial	Month 18
Deoxydopyridinoline (Nmol / mmol)	Calnat48	6.9 ± 3.8	23.8 ± 9.8
	Broth B 54	6.1 ± 1.9	8.2 ± 7.2
	Calact60	7.2 ± 3.5	11.2 ± 16.8
Telopeptide amino terminal type 1 (nmol / mmol)	Calnat48	34.8 ± 27.1	44.6 ± 30.7
	Broth B 54	31.7 ± 13.5	44.5 ± 28.5
	Calact60	37.6 ± 12.8	37.7 ± 19.3
Acid Phosphatase Resistant Tartrate (IU / l)	Calnat48	1.9 ± 0.45	2.6 ± 0.43 **
	Broth B 54	2.1 ± 0.45	2.6 ± 0.33 **
	Calact60	2.0 ± 0.39	2.6 ± 0.34 **

Time course of osteolytic markers: desoxypyridinoline, telopeptide amino terminal type 1 Tartrate Resistant Acid Phosphatase (mean and standard deviation), between baseline and month 18. (p <0.05 compared to the initial state; ** P <0.01 compared to baseline).*

FORMATION MARKERS			
Variable	Product	Initial	Month 18
Osteocalcin (ng / ml)	Calnat48	6.2 ± 5.5	6.1 ± 2.4
	Broth B 54	5.5 ± 2	5.5 ± 2.4
	Calact60	6.1 ± 2.2	5.5 ± 3.2
Bone Alkaline Phosphatase isoenzyme (mcg / l)	Calnat48	9.3 ± 2.8	8.8 ± 2.3
	Broth B 54	9.4 ± 2.4	9.5 ± 2.2
	Calact60	10.5 ± 3.6	10 ± 3.1

Time course of osteogenic markers: osteocalcin, alkaline phosphatase isoenzyme Bone (mean and standard deviation), between baseline and month 18. (## p <0.01 compared with the initial state between the study groups).

Variable	Product	Initial	Month 18
Intact parathyroid hormone (pg / ml)	Calnat48	31.7 ± 11.1	31.5 ± 11.4
	Broth B 54	28.5 ± 11.5	32.7 ± 11.2
	Calact60	29.3 ± 13.6	31.1 ± 12.5
Vitamin D (pg / ml)	Calnat48	56.2 ± 20.7	64.1 ± 18.9 *
	Broth B 54	47.7 ± 18.2	60.7 ± 18.9 *
	Calact60	55.7 ± 18.9	65.0 ± 24.5 **
Calcemia (mg / dL)	Calnat48	9.9 ± 0.6	9.7 ± 0.5
	Broth B 54	10.1 ± 0.6	9.7 ± 0.5
	Calact60	9.6 ± 1.5	9.5 ± 0.4
Phosphatemia (mg / dl)	Calnat48	3.5 ± 0.6	4.0 ± 0.5 **
	Broth B54	3.2 ± 0.5	4.0 ± 0.5 **
	Calact60	3.2 ± 0.4	3.8 ± 0.4 **
Magneemia (mg / dl)	Calnat48	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.3 **
	Broth B 54	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.2 *
	Calact60	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1 *

Time course intact parathyroid hormone, Vitamin D, calcium levels, phosphatemia, magneemia (mean and standard deviation) between baseline and month 18. (* p <0.05 compared to the initial state; ** p <0.01 compared With the initial state).

In this study as biochemical variables urinary deoxypyridinoline, type I telopeptide of serum collagen (NTx) and resistant tartrate acid phosphatase were analyzed as variables of bone resorption and osteocalcin and the bone isoenzyme of alkaline phosphatase as variables of bone formation .In general, there are no changes in the variables of bone metabolism during the 18 months of consumption of the products; The only variable that presents significant variations is the acid phosphatase resistant tartrate that increases during the 18 months of follow-up, that is to say, considering this variation, it can be affirmed that the consumption of these products increases the osteolytic processes of the bone.

In the urinary variables, there were no changes in the three groups

As for the densitometric variables, we have noticed an improvement in the bone mass of some regions (lumbar spine) that have not been correlated with changes in the biochemical markers of bone remodeling; Only a modification has been made in an osteolytic variable which, moreover, is not very sensitive..

CONCLUSIONS

- The modifications of the bone mass that produces the consumption of three dairy preparations enriched with calcium of different provenances, vitamin D and vitamin K, ingested daily for 18 months by premenopausal women, are similar.
- The 18-month daily intake of any of the three dairy products under investigation increases bone mass in the lumbar spine of premenopausal women (bone mineral content, T-score coefficient and Z-score coefficient improved, although significantly only The latter considering the total n of all groups). This is not the case with the anatomical region of the neck and trochanter of the femur.
- The daily consumption for 18 months of any of the three dairy products under investigation does not modify the serum or urinary levels of osteogenic and osteolytic markers of premenopausal women.
- Daily consumption for 18 months of any of the three dairy products under investigation increases serum vitamin D levels in premenopausal women.
- Daily consumption for 18 months of any of the three dairy products under investigation is safe.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL HUESO

El hueso está constituido por una matriz orgánica que contiene fibras de colágeno (fundamentalmente de tipo I) y material interfibrilar, sobre la que se deposita el mineral óseo, que está compuesto esencialmente por sales de fosfato cálcico (cristal de hidroxapatita). El material interfibrilar lo componen una serie de proteínas de menor tamaño que el colágeno, entre las que se encuentran la osteocalcina, que es la más abundante, la osteonectina, algunas fosfoproteínas, sialoproteínas, factores de crecimiento y proteínas séricas. Las células de este tejido son los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos (1).

La disposición de las fibras colágenas permite diferenciar dos tipos de tejido: uno maduro o laminar y otro inmaduro o fibroso, también llamado plexiforme. El hueso del adulto es, en su mayor parte, de tipo laminar, y se caracteriza porque en él las fibras de colágeno se ordenan configurando láminas óseas que pueden disponerse en cilindros concéntricos alrededor de un canal (conductos de Havers), como sucede en el hueso cortical o compacto, o formar un entramado de tabiques que se orientan según las líneas de fuerza, entre los que quedan unos huecos que están ocupados por el tejido hemopoyético (hueso trabecular o esponjoso). El hueso compacto forma la diáfisis de los huesos largos, y la capa externa de las metáfisis y de las epífisis de los huesos largos, así como la capa externa de los huesos cortos o planos. El interior de todas estas estructuras óseas está constituido por el tejido trabecular. El hueso cortical está recubierto en su superficie externa por el periostio y en su cara interna por el endostio. Los conductos de Havers y las trabéculas también se hallan recubiertos por endostio. El hueso que se forma rápidamente durante el crecimiento o en los lugares de reparación de las fracturas es el llamado hueso fibroso o inmaduro. Está constituido por fibras colágenas orientadas erráticamente, una matriz rápidamente mineralizada y osteocitos distribuidos irregularmente. Se trata de un tejido temporal, que, en condiciones normales, se reabsorbe rápidamente y es sustituido por hueso laminar (2).

El hueso está sometido a un proceso continuo de renovación que se conoce con el nombre de remodelación ósea. Este proceso se lleva a cabo mediante la destrucción por los osteoclastos de pequeñas unidades microscópicas de tejido, dispersas por el esqueleto, denominadas unidades de remodelación ósea (BRU, bone remodeling units), que son posteriormente sustituidas por tejido nuevo formado por los osteoblastos. El proceso comienza cuando acuden a un determinado foco los precursores de los osteoclastos (fase de activación) que al transformarse en osteoclastos maduros comienzan a resorber hueso (fase de resorción), labrando una cavidad tuneliforme en el hueso cortical (cono de apertura) o lacunar en el trabecular (laguna de Howship), que tras un periodo de aparente inactividad (fase de inversión), será rellenada por el nuevo tejido formado por los osteoblastos. Inicialmente los osteoblastos forman la matriz orgánica (osteóide), que se mineraliza unos 15 días después (fase de formación) (3).

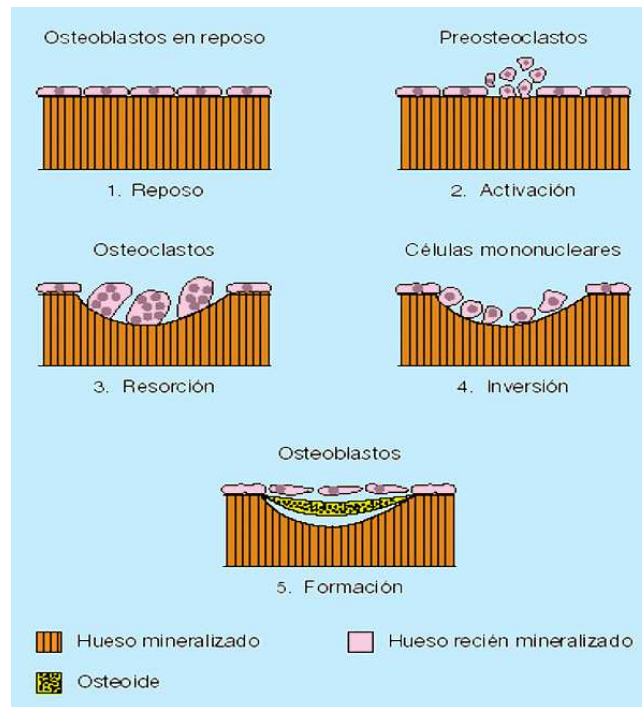


Imagen 1

El proceso de remodelación se lleva a cabo en las superficies óseas, fundamentalmente en la endostal y, en condiciones normales, el 75% de las superficies del hueso trabecular y alrededor del 95% del cortical se encuentran en reposo. La diferencia entre la cantidad de hueso que se destruye y la que se forma en cada una de las BRU se conoce como balance óseo, siendo su valor igual a cero hasta los 30-40 años, y de aproximadamente -3% a partir de esta edad. La velocidad de renovación ósea, o lo que es lo mismo, el volumen de hueso renovado en la unidad de tiempo, se conoce con el término de recambio óseo (turnover). Cuando las BRU se encuentran en equilibrio negativo, un aumento de su número, y por lo tanto, del recambio, supone un incremento en las pérdidas óseas totales. Cuando hay una adecuada coordinación temporal y espacial entre la activación de los osteoblastos y los osteoclastos se dice que existe un acoplamiento entre ambos (4).

En el ciclo de renovación ósea cabe distinguir cuatro fases: activación, resorción, inversión y formación. La activación comienza con el reclutamiento de los pre-osteoclastos, los cuales proliferan, se diferencian y se fusionan, para formar las grandes células multinucleadas que constituyen los osteoclastos maduros. El fenómeno de activación es consecuencia de la intervención de una serie de "señales" no bien conocidas, entre las que deben figurar cambios en las fuerzas mecánicas locales, cambios en la situación endocrinológica general del individuo, cambios en el ambiente paracrino del lugar que va a ser remodelado, y cambios en la propia estructura ósea surgidos como consecuencia del envejecimiento o del sufrimiento de un daño.

Antes de que comience la fase de resorción, los osteoclastos deben fijarse al hueso. Para ello, los osteoblastos de revestimiento se retraen dejando huecos a través de los cuales pasan los osteoclastos. Tras establecer contacto con la matriz ósea, las células osteoclásticas se fijan al hueso gracias a la afinidad de una integrina presente en la superficie de los osteoclastos (la $\alpha_v\beta_3$) por determinadas proteínas de la matriz ósea (vitronectina, fibronectina). Tal unión se sigue de la activación en el osteoclasto de la quinasa $p60c\text{-src}$, molécula que interviene en la organización del citoesqueleto del osteoclasto, lo que permite a estas células

adoptar la típica configuración que caracteriza al osteoclasto activo, con el borde rugoso o “fruncido”, y un anillo rico en filamentos de actina que rodea a la zona rugosa, y que al unirse a la matriz, sella el espacio que queda entre ambas (zona rugosa del osteoclasto y matriz), aislándolo del microambiente óseo. Tras fijarse a las superficies óseas, los osteoclastos maduros comienzan a resorber hueso. El mecanismo principal de disolución del componente mineral, que precede al de las fibras colágenas, está mediado por la secreción de hidrogeniones (H^+) a la zona sellada a través de un mecanismo de transporte activo ATPasa-dependiente. Los H^+ proceden de la transformación previa de CO_2 y H_2O en CO_3H_2 , gracias a la acción de la anhidrasa carbónica, enzima presente en los osteoclastos. La secreción de H^+ facilita la disolución del cristal de hidroxiapatita y, además, crea las condiciones de pH idóneas (pH: 4,5) para que actúen las enzimas lisosomales que disuelven la matriz orgánica. La más importante de ellas es la catepsina K, aunque también colaboran en este proceso otras proteinasas como las metaloproteinasa 2, 9 y 13 que se encuentran enterradas en la matriz, por lo que también se las conoce con el nombre de matrixinas. Las sustancias liberadas del hueso pasan al interior del osteoclasto, que las procesa. Tras finalizar su actuación, los osteoclastos desaparecen por apoptosis (5).

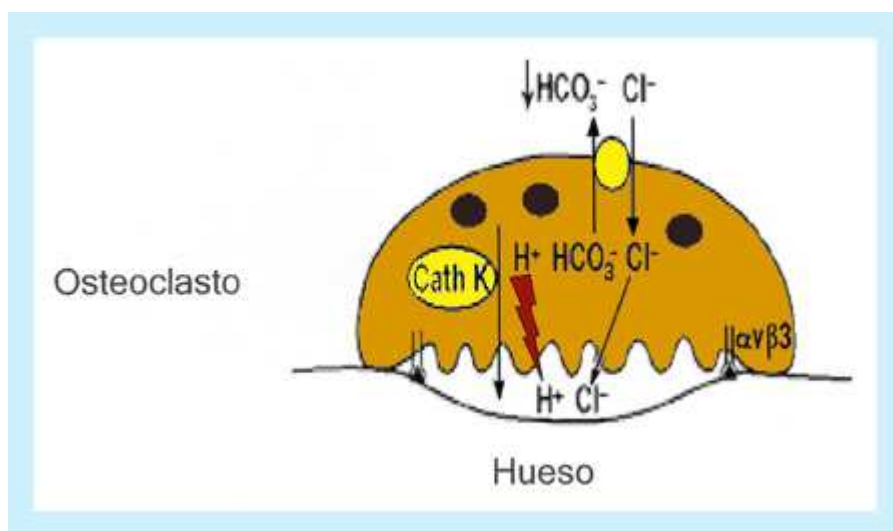


Imagen 2

Una vez finalizado el fenómeno de resorción, la superficie ósea queda libre de células, excepto por la presencia de unos pocos fagocitos mononucleares cuya estirpe se ha venido considerando macrofágica, aunque podría ser osteoblástica, y que, además de limpiar la cavidad, tiene la función de formar la línea de cementación sobre la que se depositará el hueso nuevo. Es la fase de inversión, durante la cual probablemente se establecen señales que reclutan osteoblastos. Tras este periodo de aparente inactividad van llegando al hueso los precursores de los osteoblastos que proliferan y se diferencian a osteoblastos maduros llenando con nuevo tejido óseo el hueco previamente labrado por los osteoclastos. No se conocen con exactitud los mecanismos íntimos que determinan el acoplamiento entre los osteoblastos y los osteoclastos, aunque se cree que intervienen algunos factores de crecimiento que, enterrados en la matriz ósea al formarse la misma, son liberados desde ella cuando es destruida. Se desarrolla así la cuarta fase o de formación en la que los osteoblastos sintetizan y depositan la matriz osteoide que posteriormente se mineralizará. Se considera que aproximadamente la mitad de los osteoblastos formadores de hueso mueren por apoptosis. La otra mitad, o bien se transforma en osteoblastos de superficie (células de recubrimiento) recubriendo el hueso recién formado, o bien, a medida que forman hueso, quedan enterrados en él, transformándose en osteocitos (6).

Los osteocitos se mantienen en contacto entre sí y con las células de la superficie ósea mediante una red de prolongaciones citoplasmáticas alojada en un sistema canalicular existente en el seno del tejido óseo. Tanto los osteoclastos como los osteoblastos se originan en la médula ósea. Los precursores de los osteoclastos son de estirpe hematopoyética, mientras que los de los osteoblastos pertenecen al mesénquima (estroma) de la médula. Los precursores de los osteoclastos no pueden desarrollarse en ausencia de las células del estroma, hecho conocido desde hace años, pero al que sólo se ha encontrado explicación recientemente, con la descripción del sistema RANK-RANKL-OPG (7).

Los factores que regulan el proceso de remodelación ósea sólo se conocen de modo parcial. Probablemente existen factores de naturaleza física (estímulos mecánicos y piezoeléctricos), dado que la inactividad física condiciona una pérdida de masa ósea. Para algunos autores existiría un “mecanostato”, o sistema capaz de regular la cantidad de masa ósea en función, por una parte, de la sobrecarga mecánica detectada, y, por otra, de las necesidades de resistencia del momento. Sin embargo, los factores reguladores de la remodelación mejor conocidos son los de carácter humoral. Estos, a su vez, pueden ser sistémicos (factores hormonales) o locales (factores paracrinos). Dentro de los primeros se engloban las hormonas calciotropas (parathormona –PTH–, 1,25-(OH)₂-D₃ o calcitriol y calcitonina) y otras hormonas que no están relacionadas específicamente con el metabolismo mineral, entre las que se encuentran las hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos), la hormona de crecimiento (GH), la hormona tiroidea y los glucocorticoides (8).

La PTH favorece la activación de los osteoclastos y secundariamente la de los osteoblastos, aumentando el recambio óseo. No obstante, el equilibrio final es ligeramente negativo, por lo que el resultado global de la PTH sobre la masa ósea es perjudicial. Sin embargo, cuando la acción de la PTH es intermitente, el efecto es positivo. Se cree que los osteoclastos maduros no responden a la PTH directamente, sino a través de las señales que envían las células de estirpe osteoblástica, que poseen receptores para esta hormona. Hoy se sabe que los osteoclastos y preosteoclastos expresan receptores para la PTH, por lo que no puede excluirse la posibilidad de un efecto directo de esta hormona. El calcitriol ejerce también un efecto estimulador sobre la resorción ósea. Los osteoclastos no poseen receptores para el calcitriol (aunque sí sus precursores), por lo que sus efectos parecen estar mediados por células intermediarias, como los osteoblastos, que sí los poseen. Por otro lado, el calcitriol favorece la mineralización ósea al estimular la absorción intestinal de calcio y fósforo. También promueve la actividad y diferenciación de los osteoblastos, probablemente a través del sistema OPG/RANKL y además, inhibe la secreción de PTH. En cualquier caso, conviene recordar que el resultado final del calcitriol sobre la masa ósea es favorable. Finalmente, la calcitonina ejerce un efecto inhibitorio directo sobre los osteoclastos, que poseen receptores para esta hormona, aunque se desconoce la trascendencia de su actuación, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (9).

Entre las hormonas inespecíficas hay que considerar a las hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos) y a la GH, que ejercen un efecto anabólico sobre el tejido musculoesquelético. Las hormonas sexuales son imprescindibles para el normal desarrollo del esqueleto. Se piensa que los estrógenos desempeñan un papel esencial durante la fase de crecimiento, no sólo en las mujeres, sino también en los varones. En los individuos adultos los esteroides sexuales siguen ejerciendo una influencia anabólica sobre el esqueleto, al actuar favoreciendo la formación y, sobre todo, inhibiendo la resorción ósea. Buena prueba de ello es la pérdida de masa ósea que se produce tras el cese de la actividad ovárica en las mujeres postmenopáusicas, o tras el bloqueo de la producción de andrógenos en los varones. La ausencia de estrógenos da lugar a un aumento de los osteoclastos –y secundariamente de los osteoblastos– con un incremento del recambio óseo. Se discute la mayor o menor trascendencia de su actuación directa –a través de los receptores de las células óseas para los estrógenos– y de la indirecta, a través de algunos de los factores locales que

comentaremos a continuación (IL-1, TNF- α , IL-6, prostaglandinas –PGs–, RANKL/OPG). Se han descrito dos tipos de receptores de los estrógenos, el receptor estrogénico alfa (ER α) y el beta (ER β); el primero se ha identificado tanto en células de estirpe osteoblástica como osteoclástica, mientras que el segundo sólo se ha descrito en osteoblastos. Es posible que en ambos tipos celulares, los estrógenos desarrollen efectos no genómicos. Por otra parte se ha sugerido que en el efecto protector de estas hormonas sobre el hueso intervenga un fenómeno de “disminución de la sensibilidad” del mismo a la PTH (10).

También en los varones, tanto los estrógenos como los andrógenos parecen desempeñar un importante papel en el mantenimiento del esqueleto. Los andrógenos, no sólo sirven como sustrato a la producción periférica de estrógenos, sino que ejercen una influencia positiva directa sobre el esqueleto y tienden a favorecer la proliferación de los precursores osteoblásticos y la producción de factores de crecimiento, como el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) al que luego nos referiremos y, al igual que los estrógenos, inhiben la apoptosis de los osteoblastos. Un efecto diferencial de los andrógenos, no compartido por los estrógenos, es el incremento de la aposición subperióstica. Ello explica que los huesos de los varones sean más anchos que los de las mujeres y tengan corticales más gruesas (11).

La hormona de crecimiento (GH) estimula el crecimiento longitudinal óseo en la fase de desarrollo. A pesar de que se han descrito efectos directos de la GH sobre las células óseas, la mayor parte de sus efectos biológicos son mediados por el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1). Más del 75% del IGF-1 sérico es producido en el hígado por estímulo de la GH, aunque el esqueleto es la segunda fuente de IGF-1. De hecho, el IGF-1 es el factor de crecimiento más abundante en el tejido óseo, tanto si se considera su producción como su almacenamiento en la matriz proteica. Su papel en la función de las células de linaje osteoblástico está claramente establecido: estimula la proliferación, diferenciación y mineralización de la matriz y disminuye la degradación del colágeno (12).

Finalmente, el exceso de glucocorticoides y de hormonas tiroideas ejerce un efecto deletéreo sobre el esqueleto. Es bien conocido que los glucocorticoides reducen la absorción intestinal del calcio y favorecen su excreción renal, lo que determina un aumento de la secreción de PTH con la consiguiente activación de la resorción ósea. Por otra parte, los esteroides actúan directamente sobre los osteoblastos, inhibiendo la replicación y diferenciación de estas células, y favoreciendo su apoptosis y la de los osteocitos. Además, reducen su actividad funcional, inhibiendo la síntesis de algunas proteínas de la matriz ósea (disminuyen la transcripción de los genes del colágeno tipo I, osteocalcina, fosfatasa alcalina y osteonectina). También favorecen la degradación del colágeno ya formado. El efecto negativo de los glucocorticoides sobre el esqueleto puede guardar también relación con la disminución de las hormonas sexuales y con la modulación de la síntesis y liberación de algunos factores locales. Por ejemplo, inhiben la síntesis de IGF-1 y la del receptor del IGF-2, e impiden la acción del factor transformante beta (TGF- β) con lo que se bloquea su acción estimuladora de los osteoblastos. También disminuyen la expresión del factor de transcripción Runx2/Cbfa1 que desempeña un papel esencial en la diferenciación y activación de los osteoblastos. Por último, recientemente se ha señalado que los glucocorticoides aumentan la expresión del ligando del receptor activador del factor nuclear k-B (RANKL) y disminuyen los niveles de osteoprotegerina (OPG), favoreciendo con ello la activación y diferenciación de los osteoclastos (13).

Las hormonas tiroideas son necesarias para el reclutamiento, la maduración y la actividad de osteoblastos y osteoclastos. Actúan directamente sobre estas células óseas, modulan el proceso de remodelación e inducen cambios secundarios en las concentraciones de calcio, PTH y vitamina D. Sin embargo, el exceso de hormona tiroidea provoca un aumento del turnover óseo con predominio de la resorción (14).

La importancia de las influencias hormonales sobre el esqueleto es evidente. Pero el hecho de que en un momento dado sólo algunos puntos concretos del mismo estén siendo objeto de remodelación, indica que deben existir factores locales moduladores de este proceso. Algunos de estos factores reguladores locales o paracrinos han comenzado a conocerse en los últimos años, aunque su trascendencia real aún no está bien establecida. Pueden encontrarse preformados en la matriz ósea, siendo liberados durante el proceso de resorción, o ser sintetizados de nuevo por los osteoblastos o por las células inmunes. Actúan atrayendo hacia el foco en que se inicia la remodelación a los precursores de los osteoclastos, induciendo su proliferación y diferenciación y estimulando su actuación. También actúan sobre los osteoblastos. Con frecuencia, los factores locales actúan sobre más de un aspecto, y el efecto puede ser incluso bifásico. En la Tabla se presenta, aun a riesgo de ser simplistas una relación de diversos factores que actúan en la remodelación ósea.

FACTORES ESTIMULANTES DE LA RESORCIÓN ÓSEA	FACTORES ESTIMULANTES DE LA FORMACIÓN ÓSEA
Prostaglandinas (PGE2)	Interleuquina 4 (IL-4)
Leucotrienos	Factor transformante beta (TGF-b)
Interleuquinas (IL-1, IL-3, IL-6 ,IL-11, IL-17)	Proteínas morfogenéticas del hueso (BMP)
Factores de necrosis tumoral (TNF-a, TNF-b)	Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)
Factores estimulante de colonias: Granulocíticas-macrofágicas (GM-CSF); Macrofágicas (M-CSF)	Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); Interferón gamma (IFN-g)
Factor inhibidor de la leucemia (LIF)	Factores de crecimiento similares a la insulina: IGF-1; IGF-2

Es probable que no todos estos factores actúen en la misma fase, sino que más bien vayan haciéndolo a medida que en la evolución del osteoblasto van siendo precisas unas u otras modificaciones funcionales (por ejemplo, el TGF-b probablemente estimula la proliferación de los precursores, las bone morphogenetic proteins –BMP– la diferenciación, etc.). Ello no significa que alguno de estos factores no pueda actuar en más de una fase. Los factores que estimulan a los osteoblastos pueden inhibir a los osteoclastos: por ejemplo, el TGF-b parece inducir en los osteoclastos un fenómeno apoptótico, responsable de su desaparición en el foco de resorción, para dar paso a la fase formativa. Por otra parte, el TGF-b inhibe la apoptosis osteoblástica (14).

Los factores locales son producidos por células óseas, células sanguíneas (monocitos y linfocitos) y células de la médula ósea, incluidas las del estroma medular. La producción de estos factores puede verse regulada por hormonas sistémicas. El caso de mayor interés es el de la relación de los estrógenos con la IL-1, IL-6, y el TNF-a, a los que inhibe, y el TGF-b, al que estimula. Además, en la regulación de su síntesis intervienen elementos de la matriz ósea liberados durante la resorción, como fragmentos del colágeno (15).

Por último, conviene señalar que estos factores actúan modulando la acción del denominado sistema RANK/RANKL/OPG antes mencionado. Desde hace unos años se sabe que en la formación de los osteoclastos intervienen células inmaduras de estirpe osteoblástica, las cuales poseen en su membrana una proteína (RANKL, o ligando del RANK) capaz de unirse a un receptor de la familia del TNF (RANK, receptor activador del factor nuclear k-B) presente en los preosteoclastos y osteoclastos. Dicha unión determina la puesta en marcha en estas células de fenómenos de diferenciación y activación, así como de inhibición de la apoptosis. Por otra parte, las mismas células inmaduras de estirpe osteoblástica que expresan en su superficie el RANKL, producen y segregan una proteína denominada osteoprotegerina (OPG), con afinidad

por éste. La unión de la OPG al RANKL impide el acceso del mismo al RANK, y por tanto la diferenciación y la activación osteoclástica (16).

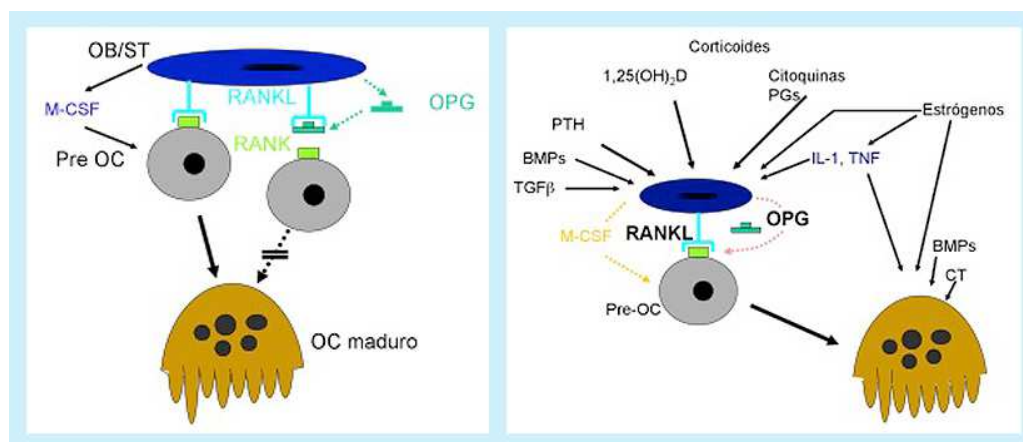


Imagen 3

También se ha comprobado que los genes que codifican la OPG y el RANKL tienen en común el poseer lugares de unión para un factor de transcripción denominado Runx2/Cbfa1 que desempeña un papel esencial en la diferenciación y activación de los osteoblastos, lo que podría explicar el acoplamiento entre las células que interviene en la resorción y la formación del tejido óseo (17).

A partir de los 40 años se produce una pérdida progresiva de masa ósea con la edad que aumenta en las mujeres durante los años que siguen al cese de la actividad ovárica.

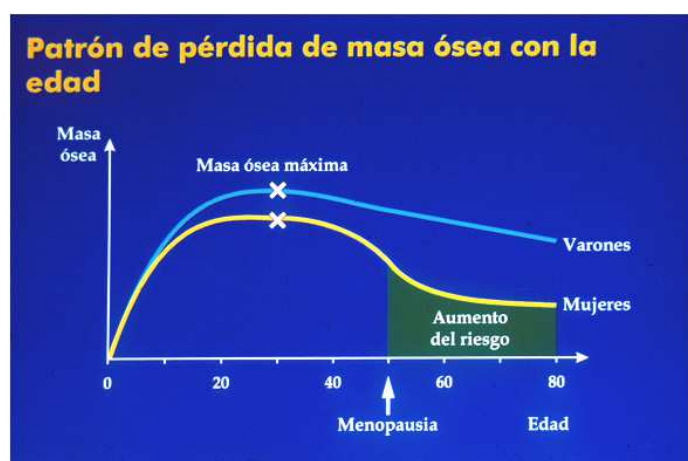


Imagen 4

La pérdida de hueso afecta tanto al hueso trabecular (predominante en el esqueleto axial) como al cortical (predominante en el esqueleto apendicular), produciéndose un adelgazamiento de las trabéculas y la perforación y pérdida de conectividad de las mismas en el primer caso, y la disminución del grosor de la cortical y el aumento de su porosidad en el segundo. Se ha calculado que, a lo largo de la vida, las mujeres pierden más del 40% de la masa ósea en columna y casi un 60% de la cadera. Estos cambios son debidos a la existencia de modificaciones en el funcionamiento de las unidades de remodelación que describiremos a continuación.

La remodelación ósea puede sufrir diversos tipos de modificaciones. En primer lugar porque lo haga el balance de las unidades de remodelación. El mantenimiento de la masa ósea exige que la cantidad de hueso destruida por los osteoclastos y la formada por los osteoblastos sean iguales. Cuando en cada unidad se forma menos hueso del que se destruye (balance negativo), la masa ósea disminuye. Tal negatividad puede deberse al sufrimiento por los osteoblastos de la pérdida de la capacidad de replicación celular que acompaña en general al envejecimiento, en relación con el acortamiento telomérico, aunque la trascendencia de este fenómeno no puede asegurarse (18). En algunos modelos murinos se ha descrito la existencia de una disminución en el número de precursores osteoblásticos y del reclutamiento y proliferación de los mismos. También en estudios realizados in vitro con osteoblastos humanos se ha observado que los procedentes de personas ancianas presentan una menor capacidad proliferativa y responden peor ante diversos estímulos hormonales y paracrinis que los de los jóvenes (19). Otro factor que podría influir en la pérdida de la capacidad proliferativa es el descenso de IGF-1 que tiene lugar con la edad y al que más adelante nos referiremos. Este balance negativo, estimado en un 3% en cada unidad de remodelación, es el responsable de la pérdida fisiológica de masa ósea que se produce con la edad, y que facilita el desarrollo de osteoporosis en los ancianos (20).

Otra posibilidad es que se produzca un aumento del recambio óseo. Dicho aumento suele producirse a expensas de un aumento en el número de unidades de remodelación, o de un incremento en la actividad de las mismas. Cuando las unidades de remodelación están en situación de balance negativo, un aumento en su número determina una intensificación de la pérdida ósea. Esto es lo que ocurre tras el cese de la actividad ovárica, y es el fenómeno principalmente implicado en la patogenia de la osteoporosis postmenopáusica. El aumento del recambio tiene además otras repercusiones desfavorables para el hueso. Puesto que cada unidad supone la existencia de un espacio libre de hueso, el aumento del recambio se traduce en un aumento del número total de tales espacios, y en definitiva del llamado “espacio óseo en remodelación”. Además, el aumento de actividad de los osteoclastos facilita el adelgazamiento y perforación de las trabéculas, con la consiguiente desconexión de las mismas. Este fenómeno incrementa exponencialmente la fragilidad esquelética. En el hueso cortical, demasiado grueso para ser perforado por los osteoclastos, el fenómeno sólo llega a afectar al endostio, en que los osteoclastos pueden atravesar el sistema de Havers y alcanzar la médula ósea. Si el fenómeno es suficientemente intenso, la acumulación de múltiples perforaciones puede dar lugar a lo que se denomina “trabeculación” del endostio y su consecuencia es un adelgazamiento de la cortical. En el espesor del hueso cortical el aumento del número de unidades de remodelación y el balance negativo de las mismas se traduce en un incremento de la porosidad (21).

A diferencia de lo que ocurre en las mujeres con la menopausia, los varones no experimentan un cese brusco de la síntesis gonadal de esteroides sexuales, por lo que no se produce un periodo acelerado de pérdida de masa ósea similar al que aparece en las mujeres tras la menopausia. Existen otras alteraciones del fenómeno de remodelación esquelética –falta de mineralización, pérdida del acoplamiento, formación de hueso plexiforme–, etc.

Las alteraciones en el funcionamiento de las unidades de remodelación guardan relación con diversos factores que clasificaremos en nutricionales, hormonales, paracrinis, mecánicos y genéticos.

La deficiencia de calcio y/o vitamina D constituye probablemente el factor más relevante en los ancianos. El calcio, junto con el fósforo, son constituyentes de la fase mineral del hueso que, depositados sobre las proteínas de la matriz ósea, dan rigidez al tejido y le confieren sus propiedades mecánicas y de sostén. Cuando disminuye el calcio ingerido con la dieta, desciende la absorción de calcio y baja la calcemia. Ello,

estimularía la secreción de PTH, que aumentaría la reabsorción ósea, la reabsorción renal de calcio y la producción renal de calcitriol. Éste aumentaría la absorción intestinal y reabsorción tubular de calcio y, en el hueso, favorecería la acción resorptiva de la PTH. El balance entre entradas y salidas del organismo tendería a ser neutralizado, con estabilidad de los valores plasmáticos de calcio, pero a expensas de un balance negativo del mismo en el hueso (22, 23).

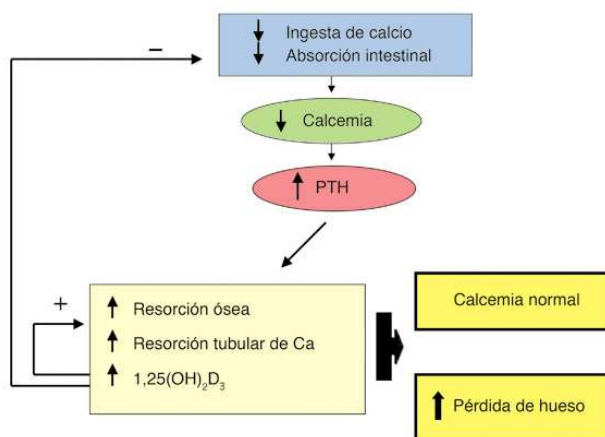


Imagen 5

Es bien conocido que la ingesta de calcio suele ser insuficiente en la mayoría de los ancianos. Tanto en España como en otros países de nuestro entorno la ingesta media de calcio se sitúa en alrededor de los 800 mg/día, cifra muy alejada de los 1.500 mg/día que se considera actualmente como la dosis recomendada a esta edad. Además de la disminución en la ingesta, los ancianos también presentan una menor absorción intestinal de calcio y una mayor pérdida del mismo con la orina. Todo ello contribuiría a explicar el aumento en las concentraciones de PTH y de los marcadores de resorción que se observa en un elevado porcentaje de personas mayores. De hecho, se ha comprobado que la administración de calcio en dosis altas (2.400 mg/día x 3 años) a mujeres mayores de 65 años consigue reducir los niveles de PTH y de los marcadores de resorción a valores similares a los de las mujeres premenopáusicas (24-26).

En cuanto a la vitamina D, cada vez hay más datos que señalan que su déficit puede ser más prevalente de lo que se pensaba, especialmente en los individuos de mayor riesgo, como los ancianos. Se ha señalado que alrededor del 30% de la población adulta española podría ser deficiente en vitamina D. Estas cifras podrían ser todavía mayores en nuestros ancianos, especialmente en los meses de invierno y en los que viven en residencias. Se ha señalado que el tratamiento con dosis suficientes de calcio (1.200 mg/día) y vitamina D (800 UI/día) puede reducir la tasa de fracturas de cadera en la población anciana ingresada en residencias (27-29).

Además del calcio y la vitamina D, existen otros factores nutricionales que pueden estar implicados en la pérdida de hueso asociada a la edad. Entre ellos se encuentran la ingesta proteica y el comportamiento alimentario en general. La malnutrición calórico-proteica actúa sobre el hueso directamente, y probablemente también indirectamente a través de otros mecanismos, como la reducción en la secreción de IGF-1. El déficit de vitamina K podría contribuir a aumentar la pérdida de hueso al reducirse sus efectos sobre la carboxilación de algunas proteínas de la matriz ósea como la osteocalcina. Finalmente, se ha señalado que la ingesta excesiva de vitamina A puede provocar una disminución de la masa ósea y un aumento de la incidencia de fracturas. Esta situación se observa sobre todo en ancianos de países

anglosajones que acostumbran a ingerir dosis excesivas de complejos polivitamínicos con mayor frecuencia que en nuestro medio (30).

Ya hemos comentado que las hormonas sexuales y la hormona de crecimiento ejercen un efecto anabólico sobre el hueso. En las mujeres premenopáusicas más del 95% del estradiol se sintetiza en los ovarios. Tras el cese de la actividad ovárica, las pequeñas concentraciones de estradiol que se detectan en la sangre proceden de la transformación en el hígado y otros tejidos (adiposo), de andrógenos como la testosterona o la androstendiona en estrógenos, gracias a la acción enzimática de la CYP19 aromatasas. Durante el periodo fértil cerca del 25% de la testosterona se produce en los ovarios, otro 25% en las suprarrenales y el restante 50% en los tejidos periféricos. Tras la menopausia, la inmensa mayoría de los andrógenos provienen de las suprarrenales (31).

En los varones, la testosterona es el andrógeno principal y procede en un 95% de la síntesis testicular. A diferencia de lo que sucede con la menopausia, los varones no experimentan un cese brusco de la síntesis gonadal de testosterona. Sin embargo, con la edad se observa una disminución progresiva de la actividad androgénica, que depende de una cierta disminución de la síntesis testicular y, sobre todo, del aumento de los niveles de su proteína transportadora la sex hormone-binding globulin (SHBG), lo que reduce la fracción de testosterona libre, de forma que, entre los 25 y los 75 años, la concentración de testosterona libre se reduce un 50%. Por otra parte, los andrógenos suprarrenales, como la dehidroepiandrosterona y la dehidroepiandrosterona-sulfato (DHEA y DHEA-S), también disminuyen de forma manifiesta con la edad, alcanzando sólo el 10-20% de los valores séricos normales en los adultos (32).

Los cambios en el eje GH-IGF-1 pueden contribuir también a explicar la pérdida de masa ósea en los ancianos. A partir de los 50 años, la secreción de GH disminuye cerca de un 15% cada década y es la principal causa de la disminución en los niveles de IGF-1 que se observa en los ancianos de ambos sexos. También es posible que intervenga la alteración en las proteínas transportadoras de estas sustancias (IGF-BP) (31).

Parece bien establecido que la concentración sérica de osteoprotegerina (OPG) aumenta de forma progresiva con la edad, probablemente para contrarrestar el aumento de la actividad resorptiva que presentan las personas ancianas. Sin embargo, los resultados obtenidos con otros factores locales han sido contradictorios. Por ejemplo, la secreción de IL-1 se ha encontrado aumentada, disminuida o normal en los ancianos. También se han publicado resultados discordantes con otras citoquinas como la IL-3, el interferón gamma, TNF o las prostaglandinas. Estas discrepancias podrían guardar relación con aspectos metodológicos. De todos modos, hay que tener presente que los cambios en la concentración sérica o en la síntesis in vitro de los distintos factores locales pueden no reflejar lo que ocurre en el microambiente óseo (33, 34).

Las tensiones que resultan de las cargas mecánicas son un regulador importante del remodelado en algunas partes del esqueleto. De hecho, parece que los huesos largos y los cuerpos vertebrales necesitan cargas pequeñas, pero frecuentes, para mantener la masa ósea. En último término, la masa y la resistencia del esqueleto vienen determinadas por la necesidad de resistir las cargas y las deformidades impuestas por las actividades extremas de la vida diaria. Se piensa que los osteocitos intervienen en la respuesta del hueso a los estímulos mecánicos, actuando como mecano-receptores que se comunican con los osteoblastos y osteoclastos presentes en las superficies óseas (35).

La inactividad física produce una pérdida de masa ósea significativa, mientras que el ejercicio físico provoca el efecto contrario. La actividad física disminuye con la edad, lo que puede contribuir a la menor masa ósea

propia del envejecimiento. El reposo prolongado en cama determina una pérdida de masa ósea especialmente marcada, lo que en los ancianos, en que las enfermedades son más frecuentes, puede ser especialmente relevante.

La pérdida de masa ósea que se observa en algunos individuos puede deberse a otros factores distintos de los nutricionales o hormonales. Algunos autores han sugerido que existiría una programación genética que, activada por factores ambientales, determinaría la pérdida de hueso en los viejos. En algunos modelos animales se ha observado un componente hereditario en la pérdida de masa ósea relacionada con la edad y existen modelos murinos manipulados genéticamente que desarrollan un cuadro muy similar al de la osteoporosis humana. En las personas, la multiplicidad de factores ambientales hace difícil conocer la heredabilidad de las fracturas, aunque algún trabajo reciente sugiere la existencia de un componente genético. Por otra parte, los factores ambientales como el tabaco, el alcohol, y algunos medicamentos como los glucocorticoides, pueden lógicamente contribuir a la pérdida de hueso en algunos ancianos (36).

3.2. OSTEOPATÍAS METABÓLICAS

Las osteopatías metabólicas no son sino la consecuencia de la alteración del fenómeno de la remodelación en alguno de sus aspectos. La **osteoporosis**, que es la entidad más frecuente, está determinada por el establecimiento de un balance negativo, a menudo acompañado de un aumento del turnover óseo, conceptos a los que ya nos hemos referido. Pero también pueden aparecer otras alteraciones en el proceso de la remodelación. Una de ellas es la falta de mineralización del osteoide, fenómeno definitorio de la osteomalacia, que en definitiva significa un fracaso del fenómeno de renovación del hueso. Si se debe a falta de vitamina D, como es lo más frecuente en los ancianos, aumenta secundariamente la PTH, por lo que cursa con un recambio elevado. Otro trastorno consiste en la formación, en lugar de hueso laminar normal, de hueso plexiforme, en que las fibras colágenas se disponen irregularmente y no se forman láminas, lo cual es también un fracaso de la renovación, porque el hueso plexiforme es más frágil que el laminar. La formación de hueso plexiforme parece verse favorecida por la existencia de un recambio exaltado, como ocurre en la enfermedad de Paget en el que el hueso resultante presentan una arquitectura anormal, con trabéculas orientadas de forma incorrecta, relacionadas entre sí de forma inadecuada, con grosor exagerado, etc. Por último, el mayor fracaso de la remodelación del hueso lo constituye aquella situación en que, tras haberse iniciado la remodelación con la destrucción del hueso, no llega a tener lugar la fase de formación. Es lo que sucede cuando hay una pérdida del acoplamiento. Ello no suele ocurrir de forma difusa en todo el organismo, sino de forma focal, en áreas bien delimitadas, lo que da lugar a la aparición de quistes, como en el caso de la osteítis fibrosa quística del hiperparatiroidismo, o de zonas líticas, como ocurre en el mieloma (37).

La mayor parte de las osteopatías metabólicas cursan con aumento de fragilidad del hueso y tendencia a las fracturas. El aumento de fragilidad guarda relación con los cambios que se producen en el hueso a consecuencia del trastorno en la remodelación: disminución generalizada de la masa ósea en la osteoporosis, disminución del tejido mineralizado en la osteomalacia, anormalidades en la arquitectura ósea en la enfermedad de Paget, acúmulo de hueso fibroso en la osteítis fibrosa quística, el Paget y las metástasis, pérdida focal de sustancia ósea en el mieloma y las metástasis líticas, etc. También suelen cursar con dolor, que puede guardar relación bien con la propia fractura, bien con el estímulo del periostio por la deformación del hueso, o bien con un aumento de la presión intramedular. Las deformaciones constituyen la tercera manifestación en importancia y pueden deberse a fracturas mal consolidadas o a aumento de la deformabilidad del hueso (38).

La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una disminución de la masa ósea y una alteración de la microarquitectura del hueso, lo que conlleva una menor resistencia ósea con el consiguiente aumento de la susceptibilidad para el desarrollo de las fracturas.

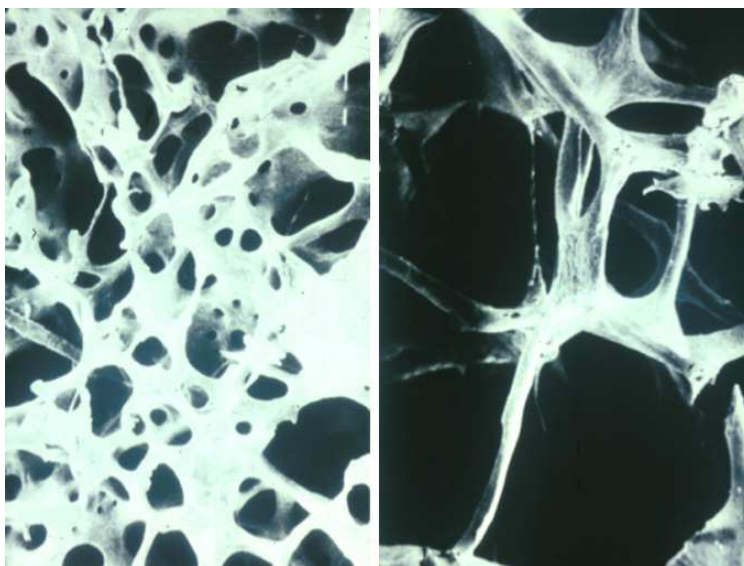


Imagen 6

Hasta hace unos años se tendía a reservar el diagnóstico de osteoporosis para aquellas situaciones en las que ya estaban presentes las fracturas. Sin embargo, un grupo de expertos de la OMS propuso hace algunos años unos criterios diagnósticos basados en la determinación de la densidad mineral ósea. Las mujeres de raza blanca con valores de densidad ósea inferiores a la media juvenil en más de 2,5 desviaciones típicas (DT) (lo que suele representarse como " $T < -2,5$ ") deben diagnosticarse de osteoporosis aunque no tengan fracturas, reservando el término de osteoporosis establecida o grave para aquellas situaciones en que también haya fracturas. Cuando la densidad ósea se encuentra entre -1 y $-2,5$ DT, se habla de osteopenia (39).

La osteoporosis, en su forma involutiva –con mucho la más frecuente–, es una enfermedad propia de las personas de edad avanzada que afecta especialmente a las mujeres y cuya prevalencia aumenta con la edad. Así, los estudios realizados en los Estados Unidos mostraron, en cifras aproximadas y mediante la determinación de la densidad ósea en las tres localizaciones típicas (muñeca, columna y cadera), una prevalencia para la década de los 50 a los 59 años, del 15%; para la de los 60-69 años, del 22%; para la de los 70-79 años, del 38%, y para la población de más de 80 años, del 70%. Las fracturas más frecuentes son las del tercio proximal del fémur (también denominadas fracturas de cadera), los aplastamientos vertebrales y la fractura del tercio distal del radio (fractura de Colles). En España, la tasa de fractura de cadera referida a la población mayor de 50 años, es de alrededor de 150-250 casos/100.000, siendo la relación mujer/hombre mayor de 2. Estas cifras son relativamente bajas si se comparan con las de los países nórdicos o anglosajones (300-1.000/100.000). La incidencia aumenta exponencialmente con la edad a partir de los 70-75 años y se calcula que 1 de cada 3 personas mayores de 80 años sufre o ha sufrido una fractura de cadera. La epidemiología de los aplastamientos vertebrales es menos conocida: aparecen fundamentalmente a partir de los 60-65 años y su prevalencia se sitúa en torno al 25% en los varones y al 40% en las mujeres mayores de esta edad. La fractura del tercio distal del radio (fractura de Colles) es también frecuente, aunque sus características epidemiológicas son algo distintas. Predomina en mujeres, pero la edad de inicio es más temprana (en torno a los 55 años) (40).

El aspecto clínico fundamental de esta enfermedad consiste en la predisposición al desarrollo de fracturas. Las fracturas osteoporóticas son, por definición, patológicas, es decir, inapropiadas para el traumatismo que las provoca. En su desarrollo intervienen fundamentalmente dos factores: la fragilidad ósea y el traumatismo. La fragilidad, a su vez, guarda relación con la cantidad y la calidad del hueso. Cuanto menor sea la masa ósea, más frágil será el hueso. La alteración de determinadas características del tejido óseo, como la perforación de las trabéculas, con la consiguiente pérdida de la conexión trabecular, o la acumulación de lesiones por fatiga por falta de renovación, facilitan el desarrollo de fracturas, y ayuda a explicar la diferente tendencia a las fracturas entre unas personas y otras. Ayuda también a ello la contribución al desarrollo de las fracturas de otros aspectos, como las características geométricas del hueso (excesiva longitud del cuello femoral) (41).

El otro factor determinante, el traumatismo, tiene especial interés en la fractura de cadera, ya que en la mayoría de los casos se produce tras una caída simple (es decir, desde una altura no superior a la que supone que el enfermo se encuentre con los pies a la altura del suelo). Por otra parte, los ancianos tienden a caerse más que los jóvenes, debido al deterioro de sus funciones neurológicas y motoras (disminución de la agudeza visual y de los reflejos posturales) y suelen tener una disminución en el grosor de las partes blandas. En los colapsos vertebrales el traumatismo no es relevante. En muchos casos pueden desencadenarse tras un pequeño esfuerzo (levantar peso, agacharse), pero otras veces no se reconoce factor desencadenante alguno (42).

La hipovitaminosis D es el segundo tipo de osteopatías metabólicas. La vitamina D3 o colecalciferol se sintetiza en la piel a partir del 7-dehidrocolesterol por la irradiación ultravioleta de longitud de onda entre 290 y 315 nm, que rompe el anillo B para formar pro-vitamina D3 que posteriormente se isomeriza a vitamina D3.

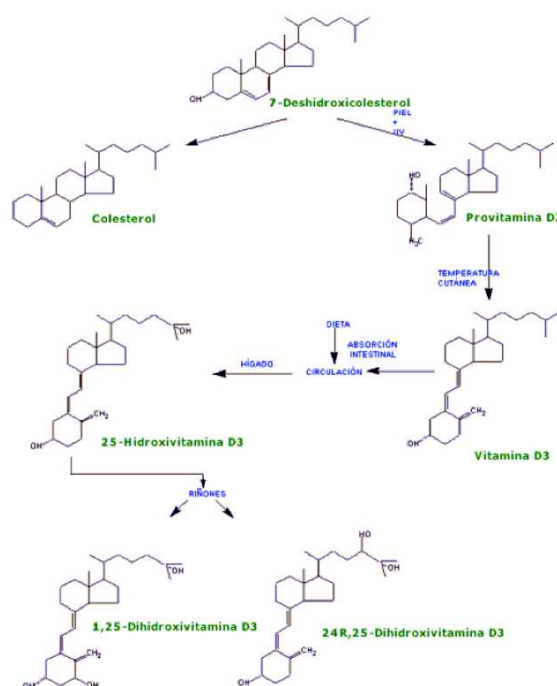


Imagen 7

La vitamina D2 se produce artificialmente por irradiación del ergosterol, y puede utilizarse como suplemento vitamínico aunque su acción biológica es inferior a la de la vitamina D3. En el hígado, la vitamina D se metaboliza a 25(OH)D, que es el metabolito circulante más abundante, y tiene una larga vida media, considerándosela como índice del estado nutricional en vitamina D. Posteriormente sufre una nueva hidroxilación en las células tubulares del riñón por la acción de la 1 α -hidroxilasa, transformándose en el 1,25(OH)2D3, también denominado calcitriol, que es el metabolito activo. El calcitriol favorece la absorción intestinal de calcio y promueve la diferenciación de los osteoblastos y la síntesis de colágeno, fosfatasa alcalina y osteocalcina por estas células. También estimula la formación y actividad de los osteoclastos, probablemente a través de su efecto sobre el sistema RANKL/OPG. Estas acciones se llevan a cabo a través de su unión con receptores específicos (VDR) que están ampliamente distribuidos por el organismo, además de encontrarse en los clásicos órganos diana (intestino, hueso y riñón) (43, 44).

La irradiación solar es la fuente principal de vitamina D, teniendo la dieta un papel secundario. Entre las fuentes exógenas más importantes de esta vitamina se encuentran los aceites de hígado de pescado, especialmente el de bacalao, y el pescado azul, así como la yema de huevo. La síntesis cutánea depende de factores como la latitud geográfica, las variaciones estacionales y atmosféricas, el grado de pigmentación y grosor de la piel, etc. Hasta hace unos años, se hablaba de deficiencia de vitamina D cuando los niveles de 25(OH)D eran inferiores a 10 ng/ml, y de insuficiencia cuando se encontraban entre 10 y 20 ng/ml. Sin embargo, en la actualidad se considera que los niveles deseables de vitamina D estarían en torno a los 30 ng/ml, dado que es a partir de esta cifra cuando la administración exógena de vitamina D no consigue aumentar los niveles de 1,25(OH)2D ni reducir la concentración de PTH. Ya hemos comentado que la prevalencia de hipovitaminosis D es alta en la población general y especialmente entre los ancianos, siendo casi universal entre las personas que viven en residencias geriátricas. Por ejemplo, en un estudio realizado en Dinamarca se comprobó que hasta el 80% de las personas mayores de 65 años presentaban una insuficiencia de vitamina D (25(OH)D < 20 ng/ml), que se acercaba al 100% en los ancianos institucionalizados. Por otra parte, en estos casos, más de la tercera parte presentaban una deficiencia grave

de vitamina D ($25(\text{OH})\text{D} < 5 \text{ ng/ml}$). En el estudio SENECA, realizado en 12 países europeos, se analizó la exposición solar y la concentración sérica de vitamina D de las personas mayores. Un 13% sufría deficiencia ($25(\text{OH})\text{D} < 10 \text{ ng/ml}$) y alrededor del 60% insuficiencia ($25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$). Además, en este estudio, los niveles más bajos de vitamina D se encontraron en los países mediterráneos –Grecia, Italia y España–. Las causas de estas diferencias entre las personas de edad se atribuyeron a la falta de fortificación de los alimentos con vitamina D, al tipo de ropa usada y a la actitud hacia la exposición solar en comparación con los países nórdicos. En EEUU la prevalencia de hipovitaminosis D es algo menor que en Europa, aunque también es importante. Por ejemplo, recientemente se ha señalado que casi la tercera parte de las mujeres estadounidenses que siguen tratamiento para la osteoporosis presentan hipovitaminosis D. En España, más de la mitad de los ancianos, vivan en residencias o en casa, tienen niveles séricos de vitamina D claramente insuficientes (por debajo de 15 ng/ml), e incluso claramente deficientes (por debajo de 10 ng/ml), con un empeoramiento estacional al final del invierno y comienzo de la primavera (45-47).

Las causas de este déficit en vitamina D son varias. En primer lugar, la dieta de los ancianos suele ser menos variada y tener un menor contenido en vitamina D. En segundo lugar, el grado de insolación suele ser menor, debido a los cambios en el estilo de vida, menor actividad física, dificultades en la deambulación y el uso de más ropa de abrigo que los adultos jóvenes. Pero además, la síntesis cutánea de vitamina D mediada por la irradiación ultravioleta disminuye en los ancianos. Por último, la producción renal de calcitriol también disminuye debido a la pérdida de función renal que acontece con la edad (48).

La falta de vitamina D puede tener repercusiones sobre el metabolismo óseo y sobre la actividad muscular. La falta de vitamina D provoca una disminución de la absorción intestinal de calcio, con la consiguiente hipocalcemia, que conduce a un aumento de la PTH. Ésta, al actuar sobre el hueso, consigue mantener la calcemia, aunque a expensas de una exaltación de los fenómenos de recambio óseo, que provoca a la larga un descenso de la masa ósea. Parfitt se ha referido a estos fenómenos denominándolos “primera fase de la osteopatía por hipovitaminosis D”, que en definitiva no sería sino una forma de osteoporosis de recambio alto. Cuando el déficit de vitamina D es más intenso (por debajo de 10 ng/ml), se produce un trastorno en el proceso de mineralización, u osteomalacia (que en la terminología de Parfitt constituiría la fase avanzada de la osteopatía por hipovitaminosis D). No se sabe con exactitud si este trastorno guarda relación con la disminución de las concentraciones de calcio y fosfato o si, además, es debido a que la vitamina D ejerce un efecto directo sobre los osteoblastos. El osteoide se acumula, aumentando su grosor y cubriendo la superficie de la mayoría de las trabéculas (49).

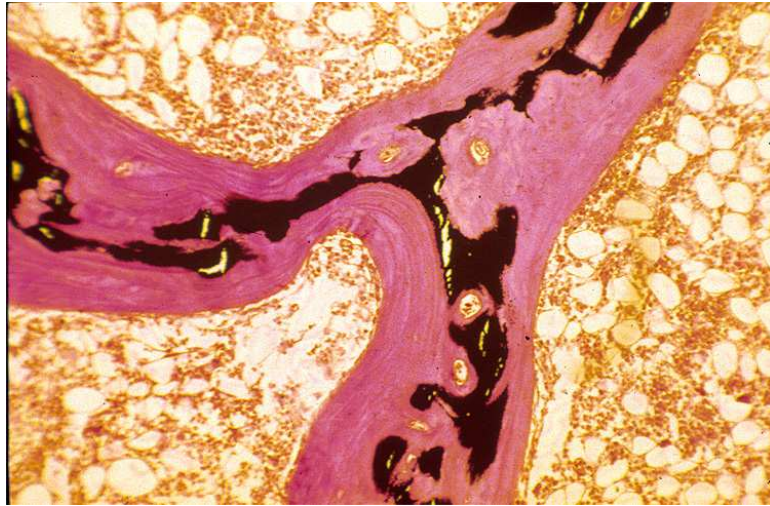


Imagen 8

La sustitución del hueso mineralizado por hueso sin mineralizar hace que disminuya su resistencia y dureza, facilitándose la aparición de deformidades y fracturas. Por otra parte, la misma deformabilidad es probablemente la causa, al estimular los receptores óseos del periostio distendido, de que la sobrecarga mecánica produzca dolor, que suele ser sordo y difuso, más intenso en las caderas y la columna lumbar. Las fracturas pueden ser completas (cuello de fémur) o incompletas, también denominadas seudofracturas o líneas de Looser-Milkman. Las de cuello de fémur probablemente son más frecuentes en los pacientes que han pasado mucho tiempo en la primera fase de la osteopatía por hipovitaminosis D, o fase osteopenizante de la carencia vitamínica. Las seudofracturas serían más propias del déficit de mineralización, o fase avanzada de la osteopatía por hipovitaminosis D u osteomalacia (50).

La debilidad muscular, generalmente proximal, es también relativamente común en los pacientes con hipovitaminosis D. De hecho, en diversos estudios se ha observado que la falta de esta vitamina se acompaña de una disminución en la fuerza y resistencia muscular que revierte cuando se instaura tratamiento sustitutivo. El efecto de la vitamina D sobre el músculo parece ser directo. Tras unirse a los VDR presentes en las células musculares, estimula la síntesis proteica y promueve la captación de fosfato generándose ATP, el cual desempeña un papel crucial en la contracción muscular. Además, los VDR intervienen en la distribución y regulación del calcio intracelular. Por otra parte, el hiperparatiroidismo secundario que acompaña al déficit de vitamina D podría también desempeñar algún papel. En estudios realizados con animales de experimentación se ha observado que la administración de PTH aumenta el catabolismo proteico y reduce la cantidad de ATP así como el número de fibras tipo 2 en el tejido muscular. La debilidad muscular asociada a la hipovitaminosis D podría contribuir a aumentar el riesgo de caídas y con ello la tasa de fracturas. Así, en diversos estudios se ha comprobado que el riesgo de caídas entre los ancianos institucionalizados guarda relación con los niveles de vitamina D y con el grado de hiperparatiroidismo secundario. Al igual que sucedía con la prevención de las fracturas, parece que la vitamina D, cuando se administra en dosis suficientes (por encima de 700-800 UI/día), reduce también el riesgo de sufrir una caída. En un metaanálisis reciente se pudo comprobar que la suplementación con al menos 700-800 UI/ día de vitamina D reducía el riesgo de caídas en más de un 20% tanto en ancianos institucionalizados como en los que vivían en su domicilio, con independencia de que estuvieran recibiendo o no suplementos de calcio. Cabe por tanto la posibilidad de que parte del efecto beneficioso de la vitamina D sobre las fracturas, sea debido a las acciones de esta vitamina sobre el tejido muscular (51).

1.3. NUTRICIÓN Y SALUD ÓSEA

La nutrición es el factor modificable más importante para el desarrollo y mantenimiento de la masa mineral ósea y la prevención y tratamiento de la osteoporosis. Aproximadamente el 80-90% del contenido mineral del hueso es calcio y fósforo. Otros componentes de la dieta, como las proteínas, magnesio, zinc, cobre, hierro, flúor, las vitaminas D, A, C y K, son necesarias para el metabolismo óseo normal, mientras que otros compuestos que se ingieren y habitualmente no son clasificados como nutrientes (por ejemplo: la cafeína, el alcohol y los fitoestrógenos), también pueden influir en la salud ósea. La interacción entre los diferentes factores nutricionales, ambientales, estilo de vida y la herencia genética, ayuda a entender la complejidad del desarrollo de la osteoporosis y de las consiguientes fracturas. Por ello, durante la madurez se revisa el papel de los componentes dietéticos sobre la salud ósea y cada nutriente se estudia de forma separada. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que muchos nutrientes son dependientes unos de otros y pueden interaccionar simultáneamente con los factores genéticos y ambientales. La complejidad de estas interacciones, justifica que algunos estudios realizados no hayan sido concluyentes (52, 53).

Entre los aportes nutricionales relacionados con la fisiología y metabolismo del hueso destacamos los siguientes (54-70).

1. **Aporte nutricional de energía:** El incremento de la ingesta energética provoca la ganancia de peso corporal y favorece además una mayor densidad ósea en el individuo. Este efecto positivo del peso puede deberse a las fuerzas que se ejercen sobre el esqueleto, es decir, corresponde a un aspecto mecánico. Por otra parte, la pérdida moderada del 10% del peso corporal, provoca una pérdida de hueso del 1 al 2%. Una pérdida de peso más severa o las situaciones de desnutrición, se consideran por tanto un factor de riesgo para la osteoporosis y pueden influir otros factores adicionales: la baja ingesta de macronutrientes -incluyendo las proteínas-, los micronutrientes como el calcio, las vitaminas D y K, mayor propensión a las caídas debido a la baja fuerza muscular, y una menor protección de la almohadilla grasa a nivel de la región glúteo-femoral. En relación con un aporte energético bajo, merece una mención especial la anorexia nerviosa. En esta enfermedad, la patogenia de la pérdida ósea se debe atribuir principalmente a la amenorrea prolongada, junto con la hipoestrogenemia acompañante, la hipercortisolemia, el bajo índice de masa corporal y la disminución de la masa magra y grasa, al igual que a una ingesta de nutrientes muy limitada, especialmente calcio, vitamina D y proteínas. A los 7-15 años del comienzo de la enfermedad osteoporótica, se pueden producir fracturas patológicas de la columna, cadera o de los huesos largos, constituyendo un problema muy importante en la sociedad actual, en la que se están dando casos de mujeres de entre 40-50 años con unos niveles de osteoporosis y una frecuencia de fracturas a nivel vertebral que corresponderían a mujeres de 80 años. En consecuencia, para el aumento de la densidad mineral ósea en estos pacientes es imprescindible que sigan una ingesta adecuada, que restablezcan el peso y vuelvan a tener ciclos menstruales.
2. **Aporte nutricional de proteínas:** El aumento en la ingesta de proteínas en la dieta aumenta la excreción urinaria de calcio, de forma que por cada 50 g de proteína consumida, se excretan unos 60 mg de calcio en orina. Así, se deduce que cuanto mayor sea el aporte de proteínas mayor será la pérdida de calcio en orina, perjudicando el balance de calcio. Dado que el 99% del calcio corporal se localiza en el hueso, se puede suponer que la ingesta alta de proteínas induce hipercalciuria, repercutiendo en una alta tasa de reabsorción ósea. La mayoría de los estudios clínicos de

intervención apoyan esta hipótesis, y según han evidenciado muchos de ellos, cuando se ingieren altas cantidades de proteínas se produce un aumento de la reabsorción ósea.

3. **Aporte nutricional de calcio:** Se ha demostrado que en la niñez y adolescencia la ingesta de calcio es beneficiosa para conseguir un buen pico de masa ósea, así como para evitar el riesgo de fractura y distintas patologías en la vejez. Sin embargo, el papel del calcio como factor preventivo en el mantenimiento de la masa ósea durante la madurez es más discutido. De hecho, los estudios transversales realizados en mujeres premenopáusicas han demostrado que la densidad ósea no se correlaciona con la ingesta actual de calcio. En estudios longitudinales realizados en esta misma población, se observó que los suplementos orales de calcio no afectaron en algunos estudios a la densidad ósea, aunque sí en otros. La respuesta del hueso frente al aumento de la ingesta de calcio es mayor durante los primeros años tras la menopausia. De hecho, en un meta-análisis de 16 estudios transversales se observó una correlación entre el contenido de calcio de la dieta y la densidad ósea. Los datos más importantes obtenidos en este grupo de población provienen de los estudios prospectivos. En ellos se observa que la pérdida ósea tras la menopausia es mayor en mujeres que siguen dietas bajas en calcio. Además, se ha demostrado en diferentes estudios con mujeres postmenopáusicas que los suplementos de calcio pueden detener su pérdida mineral ósea.
4. **Aporte nutricional de fósforo:** El aporte dietético de fósforo juega un papel básico en la mineralización ósea, pero en este caso el problema no se presenta por una ingesta deficitaria, sino más bien por un aporte excesivo en relación con la cantidad de calcio. Se recomienda que la relación calcio/fósforo de la dieta sea igual o superior a 1. Sin embargo, en la sociedad actual este cociente suele presentar valores inferiores al aconsejado, bien por aporte insuficiente de calcio o excesivo de fósforo. La carne, las aves y el pescado contienen fósforo en una proporción 15-20 veces superior a la de calcio. Los acidulantes o las bebidas de cola contienen también cantidades apreciables de fósforo. Se ha sugerido que las dietas con alto contenido proteico, y por tanto de fósforo, pueden tener un efecto negativo sobre el balance de calcio en el organismo y, por tanto, contribuir al deterioro de la masa ósea; si bien el papel de las proteínas en la osteoporosis continúa siendo objeto de cierta controversia. La cantidad de fósforo ingerido en la dieta guarda una estrecha relación con la cantidad de alimentos proteicos (carnes, pescados, huevos y lácteos) que se consumen. El fósforo está presente en cantidades elevadas en carnes y pescados. También, en bebidas carbonatadas y alimentos procesados. Se estima que los aditivos alimentarios suponen hasta un 30% del aporte de fósforo de la dieta, por lo que deben tenerse en cuenta. Dado que el fósforo está presente en la mayoría de los alimentos, es muy improbable una deficiencia en este elemento y se asocia habitualmente a una desnutrición energético-proteica.
5. **Aporte nutricional de sodio:** El consumo elevado de sodio da lugar a un aumento de la excreción urinaria de calcio que, de forma sostenida, podría contribuir a acelerar la pérdida de masa ósea. Por ello, la dieta occidental actual en la que se consume sal en exceso, no sólo favorece el desarrollo de hipertensión, sino que además, puede tener un efecto negativo en el mantenimiento de la masa ósea.
6. **Aporte nutricional de flúor:** El flúor aumenta la actividad de los osteoblastos, incrementando la masa ósea. En consecuencia, la resistencia a la presión del hueso resultante será mayor, siendo menor su elasticidad, no teniendo evidencias suficientes para afirmar que supondría un menor número de fracturas. Por ello, no se puede concluir que la suplementación con flúor sea útil en la

prevención de fracturas. Las aguas potabilizadas de algunas poblaciones se suplementan con flúor, lo cual es importante, ya que desempeña un papel primordial en el crecimiento del hueso en general y sobre la dentición en particular.

7. **Aporte nutricional de magnesio, zinc, cobre y selenio:** El magnesio, zinc, cobre y selenio son también minerales relacionados con el correcto mantenimiento estructural y funcional del hueso, aunque no hay estudios concluyentes respecto a la necesidad de un aporte específico en la dieta de ninguno de ellos. El zinc estimula la formación e inhibe la resorción ósea, y mejora la sintomatología en pacientes con artritis reumatoide. La ingesta de zinc es inferior a la recomendada en un elevado porcentaje de ancianos, siendo recomendable aumentar el consumo de alimentos ricos en este mineral. Son varios los trabajos que sugieren que los microminerales u oligoelementos juegan un papel importante en la etiología y patogenia de la artritis reumatoide. La acción antioxidante del selenio y el cobre podría reducir el efecto tóxico de los distintos radicales libres en los procesos inflamatorios.
8. **Aporte nutricional de vitamina D:** La vitamina D es uno de los nutrientes más importantes y entre otras funciones, favorece la absorción de calcio y fósforo, asegurando la mineralización correcta del hueso, gracias a que estimula la síntesis de la proteína ligadora de calcio. Es frecuente que el aporte de esta vitamina sea insuficiente en el anciano; ello obedece a varios factores. Las dos fuentes principales de esta vitamina son la ingesta y la producción a nivel de la piel, por transformación de un precursor bajo la acción de la luz solar. Los requerimientos de vitamina D para la población adulta oscilan entre las 200 UI para individuos de 19-50 años, 400 UI para los de edades comprendidas entre 51 y 70 años, y 600 UI para los mayores de 71 años. Esto se debe a la menor capacidad de síntesis en la piel por la acción de los rayos ultravioleta, con la edad. Es importante hacer hincapié en todos los grupos de población para que ingieran alimentos ricos en vitamina D, y que se expongan al sol de forma moderada. Si con estas medidas no se consigue alcanzar las recomendaciones, se pueden consumir alimentos enriquecidos con dicha vitamina liposoluble.
9. **Aporte nutricional de vitamina K:** La vitamina K juega un papel importante en la salud de los huesos requiriéndose para la gamma-carboxilación de la osteocalcina (la proteína no colágena más abundante en el hueso), hacia osteocalcina funcional. Tiene 2 formas principales (vitamina K1 y vitamina K2), que provienen de diferentes fuentes y poseen diferentes actividades biológicas. La vitamina K puede tener un papel protector frente a la pérdida de densidad ósea relacionada con la edad, proceso mediado por la gamma-carboxilación de ciertas proteínas del hueso, entre las que se incluye la osteocalcina. Este es un paso necesario para su unión a la hidroxapatita. La principal forma de aporte dietético de vitamina K es la filoquinona (K1), que se encuentra en vegetales de hoja verde y en ciertos aceites vegetales. En cuanto a los datos epidemiológicos descritos en el Nurses' Health Study, la baja ingesta de vitamina K se asoció a mayor riesgo de fractura de cadera, tras ajustar por la ingesta de calcio y vitamina D. Los datos fueron corroborados por el Framingham Heart Study, asociando un mayor riesgo de fractura de cadera en ancianos con baja ingesta de vitamina K. Por ello, se puede concluir que la vitamina K aumenta la densidad mineral del hueso y reduce la incidencia de fracturas, recomendando así un aumento de su ingesta diaria. La vitamina K2 es esencial para la función de varias proteínas y está implicada en el mantenimiento de la estructura normal de la pared arterial, el sistema osteoarticular, dientes, y en la regulación del crecimiento celular. Se ha demostrado que tiene un papel fundamental en la inhibición de focos de calcificación vascular y en la regulación de la deposición de calcio en el hueso. La vitamina K2 es a menudo

deficitaria de forma subclínica en una gran parte de la población sana, deficiencia que se relaciona con la interacción de diversos factores, tales como la ingesta alimentaria reducida, la absorción intestinal o la alteración de la producción por la microbiota intestinal, junto al posible papel del aumento del consumo en la pared vascular. Además de su importante papel en la coagulación de la sangre, la vitamina K es un significativo factor dietético en la regulación de la mineralización de hueso y cartílago evitando la osteoporosis y osteoartritis, de manera que numerosos estudios sugieren que las dietas bajas en vitamina K2 se asocian con un mayor riesgo de fracturas en los adultos mayores. De otro lado, la calcificación vascular así como la morbilidad y mortalidad cardiovascular son procesos regulados activamente por la participación de proteínas dependientes de la vitamina K2 y esto porque calcificación vascular y osteoporosis comparten mecanismos etiopatogénicos similares y la deficiencia de vitamina K2 podría ser responsable de la llamada "paradoja de calcio" caracterizada por la falta de calcio en los huesos y su almacenamiento en la pared de los vasos sanguíneos pudiendo provocar eventos clínicamente relevantes con consecuencias posteriores como accidentes cardiovasculares y fracturas óseas.

10. **Aporte nutricional de vitamina C:** La vitamina C (ácido ascórbico), es un nutriente esencial involucrado en la formación de colágeno, procolágeno (hidroxiprolina) y fosfatasa alcalina. En relación con el hueso, su deficiencia provoca un déficit en la producción de colágeno y de matriz ósea, con el consiguiente retraso del crecimiento y curación de las fracturas. El aporte dietético de vitamina C es especialmente importante en los fumadores. El análisis de los datos recogidos en el estudio NHANES III refleja un efecto protector de esta vitamina, disminuyendo las fracturas en un 49% en mujeres menopáusicas fumadoras y con terapia estrogénica. En un estudio epidemiológico en el que se evaluó la eficacia de la administración de suplementos de vitamina C durante 12 años en la densidad mineral ósea, se demostró tienen un efecto beneficioso en la densidad mineral ósea, especialmente en mujeres postmenopáusicas con tratamiento hormonal sustitutivo (THS).
11. **Aportes nutricionales de Vitamina A:** La vitamina A es necesaria para el crecimiento y el desarrollo del esqueleto, mediante su efecto sobre la síntesis de proteínas y la diferenciación celular ósea. El aporte dietético de vitamina A se puede obtener directamente de los alimentos de origen animal (leche, huevos, hígado, etc.) o en forma de provitamina A (carotenos), que se encuentra en vegetales de colores: rojos, naranjas, verdes (zanahoria, remolacha, espinacas, etc.). También hay que tener en cuenta, que una cocción moderada de estos vegetales aumenta la biodisponibilidad de los carotenoides; sin embargo, la cocción excesiva la puede disminuir.
12. **Aporte nutricional de fibra alimentaria (fitatos) y oxalatos:** El calcio se absorbe en el intestino en forma iónica. Por ello, aquellos nutrientes que eviten la ionización del calcio o se unan al mismo, pueden impedir una correcta absorción, por lo que debe evitarse la ingesta conjunta en la dieta. Entre otros, se recomienda no ingerir junto a calcio los siguientes nutrientes: fibra dietética, ácido fítico (inositol hexafosfato) y ácido oxálico. La ingesta excesiva de fibra alimentaria disminuye la absorción intestinal de calcio, pudiendo relacionarse con la presencia de ácido fítico en el salvado y la cubierta de legumbres y cereales. No obstante, el consumo de cereales integrales en España es aún muy bajo, y sólo si se utiliza salvado en grandes cantidades -con propósitos laxantes-, podría interferir en la absorción del calcio. Por otra parte, el ácido oxálico presente en verduras y hortalizas de la familia de las crucíferas (espinacas, coles, alcachofas, etc.), interfiere en la absorción del calcio. Además, en la dieta debemos evitar el consumo de alimentos que contengan calcio con aquellos que

presenten fitatos u oxalatos, para evitar problemas en la absorción intestinal de minerales divalentes (calcio, hierro, magnesio, zinc, cobre, etc.).

13. **Consumo de cafeína:** Esta sustancia de uso común, además de ser un estimulante del sistema nervioso central, favorece un balance negativo de calcio y aumenta la calciuria (calcio en orina). Además, parece que también interfiere en la absorción intestinal de calcio. Se ha estimado que existe una relación inversa entre la ingesta de cafeína y la de calcio. Hay que destacar que el efecto negativo de la cafeína es más pronunciado cuando la ingesta de calcio es baja, y que el efecto negativo de la cafeína sobre la calciuria queda contrarrestado por el beneficioso de la leche cuando lo que se toma es café con leche.

3.4. NUTRICIÓN EN LA PERI Y MENOPAUSIA Y SALUD ÓSEA

La menopausia es la etapa en la vida de la mujer que se caracteriza por la presencia de una serie de cambios hormonales y alteraciones clínicas, que reflejan el declinar de la función ovárica. La privación hormonal que esta conlleva, desencadena varios eventos que, de la mano con el proceso normal de envejecimiento, sitúa a la mujer en un marco donde existe un riesgo mayor de padecer ciertas enfermedades. Por ello mismo, la medicina ha trabajado en busca de ofrecerle a la mujer madura, una mejor calidad de vida. Es así como se ha avanzado en el conocimiento de las enfermedades y los problemas derivados del cese de la producción de estrógenos por los ovarios, enfocando especialmente la atención hacia la Terapia Hormonal Sustitutiva y sus alternativas. Sin lugar a dudas, esta línea de investigación ha sido el pilar en el conocimiento actual de la menopausia. Sin embargo, es fundamental conocer a fondo aspectos tan importantes en la salud de la mujer, como su estilo de vida y en especial su dieta.

La buena alimentación mantenida a lo largo de la vida y en especial en ciertas etapas como la menopausia, previene la aparición de varias enfermedades. Por ello, y debido a que cada vez la población mayor es más elevada, debemos conocer el proceso normal de envejecimiento y su impacto sobre las funciones metabólicas y nutricionales. Entender los cambios metabólicos que se presentan en esta etapa de la vida, es el primer paso para avanzar en el conocimiento sobre los requerimientos nutricionales que hacen parte de una dieta normal para la mujer mayor. Adicionalmente, la mayoría de las enfermedades que se presentan en la menopausia, parten de una alteración metabólica que puede ser susceptible de prevenirse con una dieta sana.

El concepto de una dieta saludable va más allá de la importancia de evitar el consumo excesivo de grasas y carbohidratos. Los beneficios que prestan el calcio y la vitamina D, entre otros, en la prevención de muchos problemas de salud, hacen que se imponga la necesidad de conocer sus acciones y darle un valor a estos nutrientes igual o mayor que a cualquier medicamento. Una dieta balanceada y sana, hace parte del estilo de vida que debe tener la mujer en busca de lograr una mejor calidad de vida. Al tener un mayor conocimiento sobre la importancia de la nutrición en la menopausia, se podrán inculcar en la mujer, hábitos alimentarios más saludables que contribuirán con el mejoramiento de su salud en esta etapa de la vida (71).

La población a nivel mundial actualmente se estima en más de 7.000 millones de habitantes de los cuales existen un 50,34% hombres y 49,66% mujeres. Dondequiera que vivan en el mundo, las mujeres viven más que los hombres. La diferencia en la esperanza de vida de hombres y mujeres es mayor en los países de altos ingresos, donde las mujeres viven alrededor de seis años más que los hombres. Se puede prever que un niño varón nacido en 2012 en un país de altos ingresos vivirá hasta la edad de 76 años aproximadamente, lo que representa 16 años más que un niño varón de un país de bajos ingresos (60 años). En lo que respecta a las

niñas, el desfase es incluso mayor, ya que la diferencia entre la esperanza de vida en los países de altos ingresos (82 años) y en los países de bajos ingresos (63 años) es de 19 años. Las mujeres en Japón son las que tienen una esperanza de vida más larga, de 87 años seguidas de las de España, Suiza y Singapur. Si nos basamos en los promedios mundiales, la esperanza de vida de una niña nacida en 2012 es de alrededor de 73 años, mientras que la de un niño varón nacido ese mismo año, es de 68 años (72).

La salud de la población está estrechamente asociada al desarrollo económico y social y a la distribución equitativa de la riqueza y la igualdad social entre sus diferentes miembros, entre estos factores, la alimentación juega un pilar básico. De ello se deduce que los grupos que tradicionalmente han tenido, o que actualmente tienen, un peor estado de alimentación y social tengan una salud peor que el resto, como se refleja en los datos de mortalidad entre diferentes clases sociales que, en muchas ocasiones, explican las diferencias de mortalidad encontradas entre las minorías étnicas de los países occidentales y en algunos grupos de mujeres (73).

El calcio es el mineral con mayor presencia en el organismo; de hecho es el cuarto componente del cuerpo después del agua, las proteínas y las grasas. La mayor concentración de calcio (casi un 99%) se encuentra en los huesos, dientes y encías y el 1% restante se distribuye en el torrente sanguíneo. No obstante, el calcio no es únicamente importante para mantener nuestros huesos fuertes y sanos, sino que también juega un papel fundamental en otras funciones del organismo, tales como la contracción muscular, regulación de la frecuencia cardíaca, participa en la coagulación de la sangre, previene enfermedades cardiovasculares y osteoporosis, mantiene una correcta permeabilidad de las membranas y ayuda a mantener la piel sana. Desde los 45 a los 50 años, los hombres pierden de un 8 a un 10% de masa ósea por década, mientras que las mujeres pueden llegar hasta un 12% de pérdida por década. Esto es debido a que en los hombres la producción de testosterona (que reduce la destrucción del hueso) permanece constante a lo largo de la vida. Las mujeres, por el contrario, sufren la menopausia y el ovario cesa la producción de estrógenos. A partir de ese momento pueden sufrir una pérdida acelerada de masa ósea, que puede conllevar a padecer osteoporosis. Por todo ello, es muy importante una correcta ingesta de calcio durante las diferentes etapas de la vida, ya que la cantidad de este mineral que vayamos acumulando en nuestros huesos reduce la probabilidad de producir problemas de descalcificación en el tiempo (74).

La osteoporosis, que literalmente significa “hueso poroso”, es una enfermedad que se caracteriza no sólo por una disminución de la masa ósea (cantidad de hueso), sino también por un deterioro del tejido óseo que empeora su calidad. Así, los huesos se tornan más frágiles y aumenta la probabilidad de que ocurran fracturas. Esta pérdida de hueso es indolora y progresiva, por lo que se trata de una “enfermedad silenciosa”: no suele haber síntomas, hasta que se producen las primeras fracturas. Una dieta con cantidades adecuadas de calcio, puede ayudar a disminuir la pérdida de masa ósea en todas las etapas de la vida de la mujer. Entre las principales fuentes de calcio encontramos la leche y sus derivados, los frutos secos, las legumbres, la yema de huevo, las sardinas, el marisco y los vegetales de hoja verde oscuro (espinaca, acelga, brócoli...), entre otros. Para poder aumentar la absorción de calcio necesitamos vitamina D que es esencial para la absorción de este mineral. Se puede obtener por medio de algunos alimentos - como los huevos, pescados grasos, cereales y leche enriquecida con vitamina D- y por la exposición de la piel a la luz del sol. Generalmente sólo 15 minutos de exposición a la luz solar son necesarios para mantener un nivel adecuado de vitamina D. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta absorción puede verse condicionada por la hora, la temporada, la cantidad de piel expuesta y el uso de un protector solar. Los adultos de 19 a 50 años deben consumir 5 microgramos (300 Unidades Internacionales) de vitamina D diariamente. Las personas entre 51 y 70, 10 microgramos (600 UI) cada día y los que tengan más de 70 años,

15 microgramos (800 UI). No se recomienda consumir más de 30 microgramos (2.000 UI) de vitamina D diariamente, porque puede dañar al hígado y disminuir aún más la masa ósea. La cantidad de calcio absorbido por el organismo es menor cuando lo tomamos de una sola vez en grandes cantidades. Así, es preferible tomarlo en dosis menores durante el día para favorecer la absorción. No se recomienda tomar más de 500 mg de calcio de una sola vez. Además, la absorción del calcio puede verse dificultada ante el consumo de café y alcohol, las bebidas con gas, la falta de ejercicio y el estrés (75).

De acuerdo con la Asociación Estadounidense de Dietética, la mejor manera de obtener el calcio que se necesita es a través de los alimentos. Sin embargo, la mayoría de personas no consumen la cantidad diaria recomendada de calcio a través de los mismos. Ante este inconveniente, surgen los alimentos funcionales: alimentos a los que se les agregan componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos grasos, etc., para ayudarnos a una correcta asimilación y asegurarnos una cantidad adecuada de los mismos en cada ingesta. En el caso del calcio, existen productos en el mercado, como la leche enriquecida con calcio y vitamina D, que favorece la absorción correcta y adecuada de este importante mineral. Como ejemplo, un único vaso de leche enriquecida (250 ml aproximadamente) puede aportar el 32% de la cantidad diaria recomendada de vitamina D y el 30 % de calcio (76).

Durante la menopausia, además de la bajada drástica de estrógenos, que precipita el aumento del remodelado óseo a favor de la resorción ósea, se producen una serie de cambios en el metabolismo del calcio, que finalmente pueden llegar a producir un balance negativo del mismo, pérdida ósea y osteoporosis. Toda mujer en esta etapa de la vida, independientemente de los factores de riesgo que pueda tener para esta enfermedad, debe llevar un estilo de vida y una dieta encaminados a prevenir la pérdida ósea y las fracturas. La adopción de medidas generales que incluyen hábitos sanos de dieta y estilo de vida, entre los cuales figuran: lácteos y otros nutrientes; actividad física; exposición al sol; cesación del tabaquismo; prevención de caídas y el uso de protectores de caderas, en casos necesarios). Hay que tener en cuenta es una enfermedad que ha tenido una progresión, por lo que se puede intervenir durante la misma y por lo tanto prevenir. Está establecido el beneficio de la dieta con un contenido adecuado de calcio. Los lácteos son considerados como las más importantes fuentes nutricionales de calcio. Desde los 50 años, la dieta debería aportar unos 1.200 mg de calcio/día. Esto se aporta sobre todo con productos lácteos, y es preferible que se elijan los que están fortificados con calcio, ya que contienen entre 40 y 100% más de calcio que los productos no fortificados. En caso de intolerancia a los lácteos se pueden utilizar las leches deslactosadas, o suplementos de sales de calcio. El ejercicio físico, particularmente el que determina resistencia, provee un estímulo de carga importante para mantener y mejorar la salud músculo-esquelética. Ha demostrado reducir el riesgo de osteoporosis y el 25% de las caídas. Ejercicios de moderados a intensos, realizados con una cierta velocidad durante intervalos cortos de tiempo, en el agua o en el suelo, puede ser parte de un programa para prevenir y tratar la osteoporosis posmenopáusica. La vibración mecánica ha demostrado ser beneficioso para la microarquitectura ósea, la mejora de la densidad ósea y la fuerza del hueso, así como el aumento de la función física. Aunque los ejercicios de impacto son reconocidos como beneficiosos para la estimulación del tejido óseo, otras variables tales como la fuerza muscular, el tipo de la contracción muscular, la duración y la intensidad de los ejercicios son también determinantes para inducir cambios en el metabolismo óseo de las mujeres posmenopáusicas. No sólo los ejercicios osteoanabólicos deben recomendarse; actividades encaminadas a desarrollar la fuerza muscular y el cuerpo el equilibrio y mejorar la propiocepción deben ser alentados a prevenir caídas y fracturas (77).

La vitamina D, que es necesaria no sólo para la salud ósea, se encuentra presente en pocos alimentos. Su principal fuente proviene de la piel por exposición a los rayos ultravioletas. En época de primavera/verano

pueden ser necesarias exposiciones de 15 a 20 minutos, y en otoño e invierno mayor tiempo. Se debe advertir sobre los horarios más nocivos para la exposición solar, en especial en épocas de mayor heliofanía, como ocurre en el verano. En numerosos casos es necesaria la suplementación con vitamina D, en especial en las personas mayores de 60 años, o en aquellas que se exponen poco al sol. El nivel sérico óptimo de 25-hidroxivitamina D debe ser mayor de 30 ng/ml (78).

3.5 LA LECHE COMO ALIMENTO FUNCIONAL EN LA PREVENCIÓN DE LA OSTEOPOROSIS

Los estudios nutricionales realizados en diferentes países en los últimos años han puesto de manifiesto la existencia de riesgo de ingesta inadecuada para algunos micronutrientes principales en importantes grupos de población. Así, en España, por ejemplo, a pesar de seguir manteniendo un buen perfil de Dieta Mediterránea, los trabajos de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) estimaron que más del 40% de la población sigue un modelo de dieta mejorable y cerca del 5% un patrón de consumo con carencias graves (79).

En estas personas, en colectivos con aportes insuficientes o en pacientes con enfermedades crónicas los Alimentos Funcionales pueden jugar un papel clave de armonización y ajuste de muchos nutrientes y no nutrientes de interés para la salud.

La mayor parte de las necesidades nutricionales están bien establecidas para la población en distintas Regiones y la cobertura de estos requerimientos debe hacerse en un primer nivel asegurando la elección de una dieta variada, tradicional y saludable. Cumplido este primer requisito deberíamos intentar, en base a la evidencia científica, alcanzar un buen grado de alimentación óptima, mejor con criterios individualizados. Esta alimentación óptima debe permitirnos expresar todas nuestras capacidades funcionales o potencialidades, físicas e intelectuales, sobre la base de un mejor estado de salud. También en este apartado los alimentos funcionales pueden tener un papel determinante.

Aún no existe una definición universal para los alimentos funcionales porque se trata más de un concepto que de un grupo de alimentos. A grandes rasgos pueden considerarse alimentos funcionales aquellos que proporcionan un efecto beneficioso para la salud, además de sus contenidos de nutrición básica. En Europa, en 1999 se elaboró un primer documento de consenso sobre conceptos científicos en relación con éstos alimentos. En este documento el International Life Science Institute (ILSI) estableció que un “alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable” (80).

Entre los ejemplos de alimentos funcionales se pueden mencionar los que están enriquecidos con vitaminas y minerales, como los cereales o los lácteos. Otros alimentos tienen modificado alguno de sus componentes, como los ácidos grasos o la fibra, e incluso valores añadidos en base a su contenido en ácidos grasos omega 3, ácido linoleico conjugado, luteína, isoflavonas, etc. Los alimentos funcionales como tal, tienen que tener unas características determinadas (81):

1. Tienen que ser alimentos que se manipulen para conseguir algún beneficio extra, por eliminación, reducción o adición de algún componente.
2. Los alimentos funcionales son básicamente alimentos “clásicos” pero llevan incorporado nuevos componentes alimentarios o no alimentarios, siempre que tengan un claro efecto beneficioso.

3. La base de la alimentación, es una alimentación completa y variada. Los alimentos funcionales, complementan la función nutritiva y la prevención de ciertas enfermedades. Hay que tener en cuenta que las cantidades deben ser las normalmente consumidas en la dieta.
4. La presentación de un alimento funcional, tiene que ser como la de un alimento, sin modificar sus características. Nunca deben presentarse en forma de cápsulas o comprimidos.

Un producto alimenticio puede ser considerado funcional utilizando cualquiera de estos cinco criterios:

1. Eliminación de un componente conocido identificado como causante de efectos no esperados cuando se consume.
2. Aumento de la concentración de un componente presente de forma natural en los alimentos hasta un punto en el que induce los efectos saludables previstos o el aumento de la concentración de un componente no nutritivo a un nivel que pueda producir un efecto beneficioso.
3. Adición de un componente que no está normalmente presente en un alimento y que no sea necesariamente un macronutriente o un micronutriente, pero para el que los efectos beneficiosos se hayan demostrado.
4. Sustitución de un componente, generalmente un macronutriente, cuyo consumo suele ser excesivo y por lo tanto una de las causas de los efectos nocivos, por un componente para el que los efectos beneficiosos se han demostrado.
5. El aumento de la biodisponibilidad o la estabilidad de un componente conocido que produce un efecto funcional o que reduce el potencial riesgo de enfermedades crónico-degenerativas.

La primera evidencia escrita sobre la existencia de alimentos funcionales, se encuentra en China en el año 1000 a.C. En Asia existe una larga tradición de atribuir propiedades curativas o terapéuticas a los alimentos y hierbas, pero éste tipo de creencias se han considerado anecdóticas y basadas en tradiciones populares. El término alimento medicinal fue usado con frecuencia en la literatura de la Dinastía Este Han, aproximadamente hacia el año 100 a.C. Otro término muy parecido, alimentos especiales, se usó en trabajos médicos en la Dinastía Song en el año 1000, ya en nuestra era. En Occidente tampoco es un concepto nuevo la creencia de que el alimento está íntimamente ligado a una salud óptima. De hecho, Hipócrates médico griego del siglo V-VI A.C, dejó en su legado una frase mítica, “Que el alimento sea tu medicina y la medicina tu alimento”. Situados en el siglo XXI, esta filosofía del “alimento como medicina” es la base del paradigma de los alimentos funcionales. El interés actual en los alimentos fisiológicamente funcionales comenzó en Japón, donde hace 14 años surgió por primera vez el término “functional food”, como un medio de mejorar la salud de su población bastante mermada como consecuencia de los efectos de la II Guerra Mundial y como forma de reducir los costes sanitarios. Japón fue pionero en establecer un sistema de aprobación para los alimentos funcionales, basado en resultados de investigaciones sobre los beneficios para la salud de productos concretos o de sus componentes. Así, en 1990 y como resultado del informe del Comité de Estudio de los Alimentos Funcionales, el Ministerio Japonés de Salud y Bienestar emitió un decreto por el cual se aprobaron los “Alimentos de Uso Específico para la Salud” (Foods for Specific Health Use, FOSHU), referidos a aquellos alimentos que contienen componentes que desempeñan una función favorable y específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, que van más allá de su contenido nutricional. En Europa y Norte América, el interés por el concepto de alimento funcional ha surgido recientemente debido a la evidencia científica de la relación existente entre Salud y Dieta. Hasta los primeros años de la década de los 80, los estudios se enfocaron principalmente hacia las enfermedades por déficit de nutrientes, mientras que a partir de ése momento los estudios se encaminaron a descubrir el potencial preventivo de

los alimentos. Precisamente el concepto de prevención de la Nutrición es el que da lugar al nacimiento del concepto de Alimento Funcional. Así, a mediados de los años 80 se crea un proyecto en Europa relativo a los alimentos funcionales por un grupo de expertos coordinado por ILSI para investigar estos aspectos. En Francia, se celebró la primera reunión plenaria en 1996. Tras la discusión sobre el estado de los conocimientos científicos sobre los alimentos funcionales, se establecieron diferentes áreas de aplicación de los alimentos funcionales: crecimiento y desarrollo, metabolismo y utilización de sustancias, defensa antioxidante, prevención y tratamiento de enfermedades o factores de riesgo cardiovascular, fisiología o función del tracto gastrointestinal, comportamiento y funciones psicológicas. La segunda reunión plenaria tuvo lugar en Julio de 1997, en Helsinki, y la tercera en Madrid a finales de 1998. No fue hasta 1999 cuando se elaboró el primer documento de consenso sobre conceptos científicos en relación con los alimentos funcionales. Hoy día continúa la investigación sobre los alimentos funcionales, para definir y obtener un mayor conocimiento sobre ellos, sus propiedades y efectos sobre las funciones fisiológicas del cuerpo humano (82).

El concepto tradicional de que para el mantenimiento de una salud óptima la dieta diaria debe proveer cantidades adecuadas de nutrientes esenciales ha cambiado en los últimos años. Cada vez es mayor la evidencia de que los alimentos, al ser una mezcla compleja de sustancias químicas, contienen también sustancias fisiológicamente activas que cumplen, al igual que los nutrientes esenciales, una función beneficiosa contribuyendo a reducir la incidencia de ciertas enfermedades crónicas y por tanto son necesarias para una vida saludable. Excepto por los nutrientes reconocidos, la mayoría de tales sustancias permanecen sin ser completamente caracterizadas por sus funciones fisiológicas. Como resultado, la prevención de enfermedades a partir de la dieta diaria es vista cada vez más como una opción basada en el desarrollo de productos diseñados para cubrir necesidades de salud específicas. Según el estudio, *'The European Diet – Evolution, Evaluation and Impacts of the Common Agricultural Policy'*, elaborado por Josef Schmidhuber, de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la creciente prosperidad de la población en Europa meridional, el norte de África y Oriente próximo está propiciando que la tradicional Dieta Mediterránea se haya sustituido por alimentos demasiado grasos, salados y dulces. De hecho, entre 1962 y 2002 la ingesta diaria de calorías en Europa creció un 20%. Sin embargo, en Grecia, Italia, España, Portugal, Chipre y Malta, que inicialmente eran países más pobres que sus vecinos del norte, el aumento del consumo de calorías fue del 30%.

En la actualidad existe una gran preocupación por la salud y se reconoce a la alimentación equilibrada como un instrumento para su protección y prevención de la enfermedad, si bien, algunas encuestas demuestran que la elección de los alimentos está condicionada por el factor económico y el gusto en primer lugar, seguido de la comodidad, simplicidad en la preparación culinaria y el valor nutritivo que los alimentos aportan a la dieta. Sin embargo, en ciertos sectores de la población (niños y adolescentes principalmente) existe un claro aumento de consumo de algunos alimentos, cuya ingesta excesiva, puede resultar perjudicial para la salud.

El Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) comenzó en 1987 a desarrollar un panel de recogida de información sobre el consumo de productos de alimentación y bebidas que anualmente ha ido actualizando y plasmando en la publicación denominada "La Alimentación en España". En el informe de 2015 se hace un repaso al mercado de alimentos funcionales destacándose como no existe un sector empresarial específico que produzca y comercialice alimentos funcionales, sino que se trata de empresas de prácticamente todos los sectores alimentarios que han incorporado en sus catálogos referencias funcionales, teniendo en cuenta la buena acogida que éstas tienen entre los consumidores. En

general, son las empresas líderes en cada sector las que han tenido un comportamiento más ágil en ese sentido, ya que la complejidad de los procesos de elaboración necesarios para colocar en el mercado alimentos funcionales dificulta la participación de medianos y pequeños operadores.

Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se añade un componente, o un alimento al que se le ha quitado un componente mediante medios tecnológicos o biológicos. También puede tratarse de un alimento en el que se ha modificado la naturaleza de uno o más de sus componentes, o en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes, o cualquier combinación de estas posibilidades. Un alimento funcional puede ir dirigido a toda la población o a grupos concretos como los referidos a la edad, constitución genética o situación fisiológica (83).

Los alimentos funcionales tienen como objetivo modificar o potenciar las “propiedades saludables” de alguno de sus componentes. Según el concepto tradicional de nutrición, la principal función de la dieta es aportar los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo. Este concepto de “nutrición adecuada” se está sustituyendo por el concepto de “nutrición óptima”, que se trata de aquella que además, contempla la posibilidad de que algunos alimentos mejoren nuestra salud y contribuyan a prevenir determinadas enfermedades (84).

Precisamente por este planteamiento aparecen los alimentos funcionales, cuyo desarrollo se basa en la relación entre dieta y salud. Se conocen muchas enfermedades crónicas que están relacionadas directamente con la nutrición y muchas de ellas podrían prevenirse con una dieta adecuada. Se ha demostrado que existe una gran variedad de micro-componentes de la dieta que pueden influir en la capacidad de un individuo para alcanzar todo su potencial genético y minimizar el riesgo de enfermar. La respuesta del organismo ante el consumo de un alimento funcional depende de diversos factores incluyendo los genéticos, el estado fisiológico y la composición de la dieta completa.

La forma de elaboración es la principal diferencia entre los alimentos tradicionales y los funcionales. Los procedimientos para obtener alimentos funcionales son muy diversos. Se pueden confeccionar a partir de alimentos tradicionales pero sufriendo ciertas modificaciones, tales como la eliminación de algún componente que tenga efectos fisiológicos negativos, aumento o adición de algún componente que tenga un efecto fisiológico positivo o incluso sustitución parcial de un componente con efecto negativo por otro con efecto positivo. Siempre se ha recurrido a determinados alimentos por sus efectos beneficiosos. Hoy en día se da una gran importancia a los temas relacionados con la salud. Por lo tanto, el papel protector o incluso terapéutico de algunos productos se ha revalorizado, aunque no siempre con el respaldo de datos científicos (85).

Cuando se evalúan los alimentos funcionales en el contexto de una dieta saludable hay que tener en cuenta los niveles de ingesta para que sean seguros. Muchas enfermedades crónicas e infecciosas presentan alguna relación con la dieta y entre el 25 y el 70% se pueden evitar con una ingesta óptima de todos los componentes de los alimentos en sus proporciones adecuadas (86). En el caso de los componentes alimentarios funcionales, se llegarán a establecer los niveles de ingesta recomendada sólo cuando en la literatura científica se documenten los ensayos científicos. El establecimiento de los niveles de ingesta adecuados de nutrientes y otros componentes dietéticos fisiológicamente activos encontrados en los alimentos funcionales debe incluir la evaluación de éstos alimentos y las interacciones entre los diferentes nutrientes y los componentes alimentarios bioactivos de la dieta (87).

Los Alimentos Funcionales deben contemplarse en el contexto de una dieta saludable para que ejerzan todo su potencial de interés. Su inclusión en la dieta podría seguir el siguiente criterio (88, 89):

1. Incorporar de forma individualizada aquellos alimentos que nos aporten prestaciones añadidas en función de la situación fisiológica
2. Plantear el consumo de alimentos funcionales en caso de exclusión de determinados alimentos por intolerancia, exclusión voluntaria o ingestas bajas.
3. En presencia de enfermedades crónicas las necesidades de algunos nutrientes pueden estar aumentadas y también pueden inducir efectos beneficiosos algunas sustancias bioactivas canalizadas a través de estos alimentos.
4. La última consideración haría referencia al papel preventivo o de promoción de la salud de algunos preparados funcionales, que incluidos en una alimentación saludable pueden ayudarnos a estar más cerca de nuestra alimentación óptima.
5. Las principales contraindicaciones son la alergia conocida a alguno de los componentes del Alimento Funcional y la compra caprichosa que dificulte la disponibilidad económica para otros alimentos tradicionales básicos.

A pesar de que los productos funcionales se encuentran todavía en fase de crecimiento y desarrollo y representan sólo un pequeño porcentaje del consumo total de alimentos, las estadísticas demuestran que se está generalizando cada vez más. La industria alimentaria emplea métodos sofisticados de elaboración y puede ofrecer alimentos con composición físico-química controlada o modificada para conseguir un objetivo basado en el principio del beneficio para la salud. Se están abriendo grandes perspectivas de investigación con respecto a las etapas de crecimiento y desarrollo, la senectud, y la prevención, ciertas situaciones metabólicas y el impacto de diversos nutrientes en distintas patologías (90).

El interés del consumidor en conocer las características nutricionales de los alimentos que se le ofertan, para poder realizar comparaciones entre productos similares y elegir los que van a componer una dieta adecuada y adaptada a sus propias necesidades, conduce a la inclusión de información de carácter nutricional y de propiedades de salud en el etiquetado de los productos alimenticios, de forma voluntaria por parte de los fabricantes. Los estudios clínicos que documentan los beneficios que aportan los alimentos funcionales para la salud son el factor clave para el éxito continuado de este mercado. Son esenciales si la sociedad quiere aprovechar al máximo los beneficios potenciales para la salud pública que estos alimentos pueden proporcionar y son también necesarios para evitar la confusión del consumidor sobre el papel que determinados alimentos pueden tener en un enfoque global para un estilo de vida saludable (91).

Según la actual legislación europea (específicamente el Reglamento 1924/2006), todos los alimentos con propiedades saludables o funcionales deben demostrar científicamente que ejercen un efecto beneficioso sobre una o más funciones del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. El Reglamento 1924/2006 establece de forma precisa y detallada un régimen bastante complejo, cuyos objetivos fundamentales son garantizar un elevado nivel de protección de los consumidores y facilitar que éstos elijan con conocimiento de causa entre los diferentes alimentos que se les ofrecen, para lo que es necesario no sólo que los productos comercializados sean seguros, sino también que su etiquetado sea el adecuado. Por supuesto, el Reglamento mantiene la prohibición de que el uso de la información pueda inducir a error al consumidor o atribuya virtudes medicinales a los alimentos. El aspecto principal a tener en

cuenta para el uso de declaraciones alimentarias, será el fundamento científico, cuya justificación corresponde a los explotadores de empresas alimentarias.

La dieta desempeña un papel determinante en todas las etapas de la vida y es un factor implicado en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades, junto con unos hábitos de vida saludables; la práctica regular de ejercicio, el abandono de hábitos tóxicos y la disminución del estrés. Una alimentación variada, equilibrada y completa es la que asegura que recibamos todos los nutrientes esenciales necesarios y en las cantidades recomendadas. Sin embargo son numerosos los cambios que tienen lugar en la sociedad actual, tanto a nivel demográfico, social y económico, que repercuten de forma directa en los hábitos y estilo de vida, y por lo tanto en la salud. Cambios como el aumento de la esperanza de vida y el envejecimiento de la población, el deseo de gozar de una mejor calidad de vida y el aumento de los costes sanitarios; así como los cambios en los hábitos alimentarios y el avance en los sistemas tecnológicos de producción, contribuyen a que las ingestas de ciertos nutrientes se hayan visto alteradas, y han potenciado que gobiernos, investigadores, profesionales de la salud y la industria alimentaria busquen la manera de controlar dichos cambios de forma más eficaz para- mejorar la salud y el bienestar de la población.

En el mercado existen una gran variedad de alimentos a disposición del consumidor, pero en estos momentos la prioridad radica en identificar qué alimentos pueden mejorar la salud y el bienestar y reducir el riesgo o retrasar la aparición de enfermedades importantes, como la osteoporosis. Consecuencia de esta realidad empieza a verse la dieta como la primera línea de defensa en la prevención de ciertas enfermedades crónicas y degenerativas.

En todas estas premisas se fundamenta el creciente interés en las propiedades beneficiosas y preventivas intrínsecas de ciertos componentes de la dieta y de cómo éstos pueden incorporarse al consumo habitual de la población para asegurar el aporte diario recomendado de los nutrientes esenciales y además aportar algún efecto que vaya más allá de la estricta nutrición. Suele tratarse de un efecto preventivo o protector, aunque para ser más rigurosos deberíamos hablar de un efecto de disminución de riesgo de ciertas patologías.

En este gran interés en la promoción de la salud nutricional (capacidad de modulación metabólica con beneficio para la salud) se incluyen los alimentos funcionales que tienen como objetivo modificar o potenciar las “propiedades saludables” de alguno de sus componentes. Según el concepto tradicional de nutrición, la principal función de la dieta es aportar los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo. Junto al de “nutrición adecuada” en los últimos años ha surgido el concepto de “nutrición óptima”, que contempla la posibilidad de que algunos alimentos mejoren el estado de salud y contribuyan a prevenir determinadas enfermedades. Cada vez existe una evidencia más sólida y convincente sobre la relación entre la dieta y la salud.

Tratada industrialmente, la leche, ha supuesto un gran avance en nutrición humana y su consumo generalizado ha contribuido a mejorar notablemente el nivel de salud de la población. Tradicionalmente se ha considerado como un alimento completo y equilibrado, proporcionando un elevado contenido de nutrientes en relación al contenido calórico: aporta proteínas de alto valor biológico, hidratos de carbono (fundamentalmente en forma de lactosa), grasas, vitaminas liposolubles, vitaminas del complejo B y minerales, especialmente calcio y fósforo (92). El valor nutricional de la leche es superior al de la suma de todos sus componentes, lo que se explica por su particular equilibrio o balance nutritivo (93). Desde ese concepto debe señalarse que el agua es cuantitativamente su principal nutriente, ya que su contribución a la

composición de la leche de vaca es cercana al 90%. Por tanto, su carácter de bebida nutritiva debe de ser destacado.

En todo caso, es reconocido por las principales guías alimentarias como fundamental en la idea de dieta variada y saludable (94), aconsejándose su consumo diario al mismo nivel en la pirámide de los alimentos que el aceite de oliva (95).

La leche constituye un importante apoyo nutricional en el adulto a tenor de lo demostrado en otros países (96). Particular importancia tiene el aporte de vitamina D (leche enriquecida) en el anciano al haberse descubierto numerosos end-points que demuestran la multiplicidad de sus efectos sobre fracturas lo que unido a su habitual deficiencia ha llevado a incrementar las recomendaciones de ingesta en los últimos años (97). Un metaanálisis de la suplementación con calcio en ancianos (98), con dosis menores de 400 UI de vitamina D al día, concluye que la suplementación con calcio ha demostrado ser capaz de aumentar la masa ósea, y produce una disminución no significativa del riesgo de fractura. Otros estudios han demostrado, en mayores de 65 años, que la suplementación de calcio y vitamina D produce un aumento de la masa ósea a nivel espinal, mientras la masa ósea a nivel de cuello femoral se mantuvo, produciéndose una reducción significativa de las fracturas no vertebrales (99). Este efecto positivo de la leche sobre la salud ósea puede atribuirse a su contenido en minerales que forman parte de la matriz inorgánica del hueso, su contenido en vitamina D (enriquecidas) y el contenido en potasio que regula de forma indirecta el recambio óseo. El papel de algunos péptidos proteicos de la leche o de la glicoproteína lactoferrina sobre la inhibición de la resorción ósea es un área de investigación (100).

3.6. RECOMENDACIONES DIETÉTICAS EN EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS

La osteopenia es una disminución en la densidad mineral ósea y es considerado un estadio preclínico a la aparición de la osteoporosis. Sin embargo, no todos los individuos diagnosticados con osteopenia desarrollan osteoporosis. Tanto la osteopenia, como la osteoporosis son diagnosticadas por densitometría ósea que da un factor pronóstico sobre el riesgo de fracturas osteoporóticas. De acuerdo con OMS existe una situación de normalidad hasta -1 desviación estándar (DS) del T score; la osteopenia se diagnostica cuando existe una T score menor a -1,0 y mayor a -2,5 DS; y la osteoporosis cuando se encuentra por debajo de -2,5 DS del pico de masa ósea.

La osteoporosis es una enfermedad multifactorial que se caracteriza por la reducción de la masa ósea, disminución de la resistencia y deterioro de la microarquitectura del hueso, lo que aumenta su fragilidad y el riesgo de sufrir fracturas. Se estima que, a escala mundial, el riesgo de sufrir fracturas osteoporóticas a lo largo de la vida llega hasta un 40 % en las mujeres y hasta en un 13 % en los varones elevando el coste de la asistencia sanitaria mundial. El riesgo de fracturas por fragilidad ósea se incrementa de manera exponencial conforme se acerca la vejez. Las mujeres tienen más riesgo que los varones de sufrir osteoporosis y una de cada tres mujeres corre el riesgo de sufrir fracturas osteoporóticas a lo largo de la vida.

Durante la edad adulta, tanto la masa ósea como la fortaleza del musculo esquelético, están bajo la influencia de los factores ambientales, dentro de los cuales los factores nutricionales juegan un papel fundamental. Los nutrientes que tienen mayor impacto fisiológico son el calcio, la vitamina D, el fosfato inorgánico y las proteínas. El hueso está formado esencialmente de un 60% de minerales, un 30% de materia orgánica y un 10% de agua, estas proporciones comienzan a cambiar a partir de los 40 años donde comienza a haber una pérdida acumulada. Aunque esta pérdida no es lineal se estima que, en términos generales, se pierde de un 0,5 a un 1% cada año.

Los objetivos principales de un plan de alimentación para personas con osteopenia u osteoporosis son conseguir o mantener un adecuado estado nutricional y una vida activa, evitando tanto la desnutrición como el sobrepeso; impedir o frenar la pérdida de masa ósea; y favorecer la recuperación de las fracturas óseas si las hubiera. El plan alimentario de personas con osteopenia u osteoporosis tiene que tener en cuenta los siguientes factores para su diseño:

1. El calcio es el ion más abundante en el esqueleto humano, este mantiene la integridad estructural y regula su función metabólica. Por lo tanto, el calcio dietético es fundamental para la correcta mineralización del hueso contribuyendo a mantener la densidad mineral ósea y la calidad del hueso. El plan de alimentación debe suplir las necesidades diarias de este mineral (1200-1500 mg/día) a través de productos lácteos y otras fuentes dietéticas primero y con la ayuda de suplementación después si fuera necesario. Los lácteos aportan más del 80% del calcio de la dieta por lo que no es de extrañarse que personas con bajo consumo tengan mayor riesgo de presentar osteoporosis. La lactosa de la leche y los productos lácteos favorecen la absorción de calcio en el intestino delgado. Las personas con intolerancia a este hidrato de carbono pueden optar por yogur o bebidas lácteas fermentadas con menor contenido de este disacárido. La suplementación de calcio ha resultado efectiva para reducir la pérdida de hueso en mujeres postmenopáusicas, sin embargo, también responden al aumento de calcio a través de la alimentación. Se recomienda incluir dentro de un plan de alimentación leche y sus derivados en al menos 4 raciones al día para asegurar el aporte del calcio y vitamina D necesarios. Otra buena fuente de calcio está en las espinas de los pescados pequeños (boquerones, sardinilla, etc.) o pescados enlatados.
2. La vitamina D es fundamental para la absorción de calcio y su deficiencia aumenta el riesgo de sufrir osteoporosis. El 90% se sintetiza por exposición solar, sin embargo, mayoritariamente en épocas de poca luz solar hay que garantizar un adecuado aporte a través de la dieta. El plan de alimentación debe lograr aportar 15 µg/día y 20 µg/día en personas mayores de 70 años por la reducción en la capacidad de síntesis a través de la piel. Recurrir a alimentos enriquecidos en esta vitamina puede ser una opción adecuada. Promover la exposición solar de al menos 15 minutos al día en horas de baja incidencia, sin protección solar, es recomendable. Los alimentos a incluir en un plan de alimentación son los pescados grasos y lácteos que contienen colecalciferol. La reducción del riesgo de fractura es proporcional a los niveles de vitamina D en sangre y el descenso es claro cuando su concentración se encuentra entre 25-30 ng/mL.
3. Una dieta alta en azúcares simples incrementa la eliminación urinaria de calcio al producir un aumento de los niveles séricos de insulina que inhibe la absorción renal del calcio. Se debe limitar el uso de azúcar hasta lo aconsejado en la dieta habitual del paciente con osteoporosis.
4. Debe garantizarse un adecuado aporte de fibra, sin embargo, no hay que perder de vista que alimentos ricos en fibra también lo son en ácido fítico (salvado, cubierta externa de cereales y legumbres) y ácido oxálico (alcachofa, coles, espinacas). Ambos compuestos inhiben la absorción del calcio por lo que el aporte de fibra dietética no debe exceder la recomendación (25-35 g/día).
5. Existen alimentos que interfiere con el metabolismo del calcio como el alcohol. Este ejerce una acción tóxica sobre los osteoblastos y aumenta la velocidad de pérdida de masa ósea. La cafeína también aumenta la excreción urinaria y fecal del calcio. Por lo tanto, su inclusión dentro del plan de alimentación debe ser cuidadosamente considerado.

6. Los ácidos grasos saturados producen una disminución en la absorción del calcio ya que forman compuestos insolubles con el que se eliminan en heces. El aporte de ácidos grasos saturados debe ser <10% de la ingesta energética y los ácidos grasos trans menor del 1%. La proporción de grasas debe ser la recomendada para población general si no existe un problema de sobrepeso u obesidad (20-30% hasta un 35% si el excedente proviene de ácidos grasos monoinsaturados)
7. La fuerza muscular juega un papel importante en la reducción del riesgo de caídas y por lo tanto del riesgo de fracturas. La masa muscular esquelética corresponde a aproximadamente 40% de la masa corporal total. La cantidad total de proteína en el hueso, principalmente en forma de colágeno, es de aproximadamente 2.0 kg. En todo el cuerpo, alrededor del 50% de las proteínas están presentes tanto en el músculo esquelético y el hueso, de ahí que su adecuado mantenimiento sea crucial principalmente en adultos mayores donde problemas como la sarcopenia pueden estar presentes. La cantidad de proteínas de la dieta total debe ser de 1 g/kg/día que garantiza el adecuado aporte de aminoácidos como lisina y arginina que forman sales solubles con el calcio y aumenta su absorción. Un exceso de proteínas de la dieta produce acidosis metabólica debido al incremento de ácidos orgánicos con la consecuente salida de calcio del hueso y pérdida de masa ósea. Una buena opción es preferir fuentes proteicas a partir de pescados, principalmente azules.
8. El consumo elevado de sodio produce un aumento de la excreción urinaria de calcio que con el paso del tiempo acelera la pérdida de masa ósea. En el plan de alimentación el uso de sal añadida a los alimentos se debe restringir a la recomendación.
9. La inclusión de alimentos ricos en fitoestrógenos e isoflavonas puede ser una buena alternativa en mujeres postmenopáusicas que ven reducidos los niveles de estrógenos de manera drástica.

Existen por lo tanto, factores que afectan la absorción del calcio en el organismo y que se deben de tener en cuenta en el diseño del plan alimentario sin dejar de contemplar que este debe mantener una alimentación saludable, variada y equilibrada, realizar ejercicio físico de manera regular y evitar el consumo de tabaco.

3.7. CALCIO Y HUESO

Además de la cantidad de calcio aportado por la dieta, la absorción del calcio dietético constituye un factor crítico que determina la disponibilidad biológica del mismo, por lo tanto es básico revisar cómo se produce la misma. El calcio en los alimentos se encuentra en forma de sales y/o asociado a otros constituyentes, bajo la forma de complejos o iones de calcio (Ca^{2+}). En condiciones fisiológicas se absorbe principalmente en el intestino delgado, responsable del 90% de la absorción de modo progresivo decreciente duodeno>yeyuno>íleon. La capacidad del intestino delgado para absorber el calcio contenido en la dieta depende, además de la cantidad de calcio aportado, de la solubilidad e ionización de las sales de calcio, ambas pH dependientes y de la disponibilidad de vitamina D. Pero no todas las sales y complejos de calcio solubilizan e ionizan en la misma proporción. Por ejemplo, constituye un paradigma que el carbonato cálcico es poco soluble a pH alto, y para su absorción es crítica la presencia del ácido gástrico. Diversos factores afectan la eficiencia de la absorción intestinal de calcio, la cual depende de las necesidades fisiológicas del organismo. Cuando estas aumentan, la eficiencia de la absorción también lo hace; así el crecimiento, el embarazo, y la lactación estimulan la absorción intestinal de calcio, mientras que el envejecimiento la disminuye. Para que ese mecanismo fisiológico de adaptación se adecue a las necesidades del organismo, se precisa de un estatus adecuado en vitamina D. Así, un aporte bajo de calcio en la dieta en relación con las necesidades del organismo, aumenta la proporción de calcio intestinal absorbido, mediante un mecanismo que modifica el

metabolismo de la vitamina D, la composición lipídica y la fluidez de las membranas intestinales. La absorción de calcio dietético, de modo genérico, disminuye con un mayor contenido de grasa, fibra, fitatos, oxalatos, o cafeína, y aumenta con la lactosa y el contenido proteico de la dieta (101, 102).

El calcio es el mineral más abundante en el esqueleto, aproximadamente 1.000 g, en forma de cristales de hidroxiapatita, que contiene el 99% del calcio corporal y el 80% del fósforo y agua ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Estos dos elementos desempeñan un papel importante en la fortaleza de los huesos y son de importancia nutricional primordial en la osteoporosis. Para conseguir el pico de masa ósea, y para prevenir su pérdida con la edad, el calcio es el nutriente más importante. Además, el calcio tiene funciones metabólicas celulares muy importantes, y es básico en el funcionamiento normal de una gran variedad de tejidos y procesos fisiológicos del organismo, por lo que, debe mantenerse siempre una concentración mínima de Ca^{2+} en sangre y otros líquidos extracelulares. El esqueleto, a su vez, constituye el principal reservorio orgánico de calcio, donde ejerce dos funciones básicas, el mantenimiento de la integridad estructural y la regulación de la función metabólica. El calcio dietético contribuye a la homeostasis corporal del mismo, a la adecuada mineralización del osteoide y a mantener la densidad mineral y la calidad del hueso. La insuficiencia dietética de calcio nunca llega a afectar notablemente las funciones biológicas celulares. El organismo mantiene normales los niveles extracelulares de calcio, mediante mecanismos muy eficientes para la movilización de calcio desde el hueso, a costa de deteriorar la cantidad, la estructura y la calidad de este. Las necesidades corporales para calcio se han establecido sobre la base de los requerimientos dietéticos de calcio por el hueso, pero, también deben ser cubiertas las necesidades extracelulares e intracelulares del resto de los tejidos. En el momento actual, disponemos de un conjunto consistente de pruebas que avalan la importancia del aporte adecuado de calcio a lo largo de la vida, que se resumen en varios informes promovidos por varias Agencias para la Salud.

En el tratamiento de la osteoporosis, también la importancia del calcio está establecida con precisión, y junto con la vitamina D, constituye el componente clave en cualquier régimen preventivo o terapéutico de la osteoporosis. La evidencia disponible se revisa a continuación. La guía de práctica clínica de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral (SEIOMM) de 2008 estableció que los suplementos de calcio y vitamina D reducen la incidencia de fracturas no vertebrales y de cadera en mujeres de más de 65 años con aporte de calcio y vitamina D insuficiente y en personas institucionalizadas. Las pacientes tratadas con fármacos antirresortivos o anabólicos deben recibir suplementos adecuados de calcio y vitamina D (recomendación A) (103-106).

Hay dos metanálisis recientes publicados en Endocrine Review y por la Fundación Cochrane. De los 66 documentos publicados se seleccionaron los 23 ECAs (ensayos clínicos aleatorizados) y finalmente 16 en los que la duración fue superior a un año, incluían solo mujeres y la densidad mineral ósea incluía columna lumbar, caderas, tercio distal de radio o cuerpo entero con o sin evaluación de fracturas. Incluyeron 15 ECAs con 1.806 mujeres, mayores de 45 años postmenopáusicas (amenorrea al menos 6 meses). Las mujeres recibieron placebo o de 500 a 2.000 mg diarios de suplementos de calcio (953 mujeres) que incluían gluconato de calcio, carbonato de calcio, citrato de calcio con o sin vitamina D. Si tomaban vitamina D (grupo placebo y/o control) la dosis de inicio no debería de superar las 300.000 UI y que la dosis de mantenimiento no fuese mayor de 400 UI por día. Para el análisis del efecto sobre fracturas se seleccionaron cinco estudios que incluían a 576 mujeres. Se observó una tendencia no significativa hacia la reducción en las fracturas vertebrales en el grupo de calcio. El riesgo relativo de fracturas vertebrales fue 0,79 (IC 95%: 0,54-1,09, $p=0,2$), y el riesgo de las fracturas no vertebrales fue 0,86 (IC 95% 0,43-1,72). Entre esas publicaciones y la aparición de nuevos metaanálisis se publicaron varios artículos relevantes. En el estudio RECORD, en el que

se incluyeron unos 4.700 pacientes ancianos (más de 70 años) con antecedentes de fracturas por fragilidad, no se observó disminución del riesgo de fractura tras administrar un gramo de calcio con o sin vitamina D. En las cuatro ramas del estudio no se encontraron efectos protectores sobre nuevas fracturas. Es importante destacar que los niveles séricos de vitamina D (25(OH)D) medios de los participantes eran bajos al inicio del estudio (15 ng/ml) y con un incremento medio de 9 ng/ml en los que recibían 800 U de vitamina D y de 1,6 ng/ml en los que solo recibían calcio. También destacar que en este estudio fue causa de exclusión recibir más de 200 UI de vitamina D o más de 500 mg de suplemento de calcio así como el uso de medicación activa sobre el hueso. Pese a ello, a los dos años de iniciar el estudio un 5% de los pacientes estaban tomando medicamentos activos sobre el hueso y un 2,8% estaban tomando calciovitamina D de forma abierta. De este estudio, se puede concluir que los suplementos de calcio (solo o asociado con vitamina D), en pacientes ancianos, con bajo estatus de repleción de vitamina D y fracturas por fragilidad previas, no son efectivos en la prevención de nuevas fracturas. En el estudio WHI se incluyeron 36.282 mujeres postmenopáusicas entre 50 y 79 años, con una ingesta media de calcio de 1.100 mg. día, que recibieron 1.000 mg de calcio elemento y 400 UI de vitamina D diarias divididos en dos ramas (18.176 con tratamiento activo y 18.106 con placebo). Se estudió la incidencia de fracturas de cadera y de otras localizaciones específicas, comparando entre grupos. Se permitió el uso de calcitonina o bisfosfonatos y más de la mitad de las pacientes estaban en THS (de acuerdo con la randomización entre mujeres en el ensayo de terapia hormonal). Se observó una disminución del 12% del riesgo de fractura de cadera en el grupo que tomaban calcio + vitamina D, aunque no significativo. No hubo reducciones significativas en fracturas vertebrales clínicas de brazo o muñeca o fracturas totales. Sin embargo, en el subgrupo de mujeres con adherencia al protocolo sí se redujo el riesgo de fractura (RR= 0,71; IC 95%: 0,52-0,97), aunque teniendo en cuenta el número elevado de pacientes que estaba tomando otra medicación osteoactiva, pudiera ocurrir que la mayor adherencia al calcio-vitamina D se correspondiera también con una mayor adherencia al resto de la medicación.

Más recientemente, Prince et al obtienen unos resultados similares y en análisis por intención de tratar encuentran que los suplementos de 1.200 mg de calcio/día no reducen significativamente la incidencia de fracturas y sí lo hacen cuando se analizan sólo las mujeres adherentes al tratamiento (el 56,8%). Se trata de un estudio de 5 años de seguimiento, realizado en 1.460 mujeres australianas mayores de 70 años (edad media 75), aleatorizado, doble ciego y controlado frente a placebo. El grupo de tratamiento recibió una tableta de carbonato cálcico (600 mg) en cada comida. El 17,5% del grupo placebo había sufrido a los 5 años al menos una fractura clínica frente al 15,1% de las que recibían suplementos de calcio (HR= 0,87; IC 95%: 0,67- 1,12). Tampoco hubo diferencias significativas en la aparición de nuevas fracturas vertebrales evaluadas por morfometría densitométrica (11,1% en placebo vs. 10,2% con calcio. HR= 0,95; IC 0,78-1,17). En las 830 mujeres con buena adherencia al tratamiento (tomaron \geq 80% de las tabletas), el número de nuevas fracturas a los 5 años fue significativamente inferior en las que tomaban calcio respecto a las del grupo placebo (10,2% vs. 15,4%. HR= 0,66; IC 95%: 0,45-0,97). La diferencia lo fue para el conjunto de cualquier fractura, no específicamente para la fractura de cadera (0,7% en placebo vs. 1,2% calcio), ni vertebral clínica (2 vs. 2,1% placebo y calcio respectivamente). Existió una tendencia a la reducción de nuevas deformidades vertebrales en el grupo con calcio, (7,2% vs. 10,5% en las placebo. HR= 0,83; IC 95%: 0,65-1,05). El análisis restringido a las mujeres que cumplían con el tratamiento estaba planificado previamente en el protocolo del estudio. También remarcar que la ingesta media de calcio era de aproximadamente 900 mg/día similar en todos los grupos, igualmente, que el análisis en un subgrupo aleatorio de 81 mujeres, los niveles séricos de 25(OH)D fueron 27 ng/ml (para pasar a nmol/l, multiplicar por 2,5) de media en invierno y de 35 ng/ml en verano. Ninguna de estas mujeres presentaba niveles elevados de PTH sérica.

En el año 2007 se publicaron tres metanálisis sobre los efectos de calcio con resultados aparentemente contradictorios. Boonen et al, con el objetivo de extender los resultados del metaanálisis de Bischoff-Ferrari que mostraba que dosis de 700–800 UI diarias de vitamina D reducían el riesgo de fractura de cadera un 25%, examina la necesidad adicional de calcio en esos resultados. Tras una búsqueda sistemática y mediante un modelo de efectos aleatorios, analiza 4 ensayos randomizados (9.083 pacientes) que presentan un riesgo relativo de fractura de cadera de 1,10 (IC 0,89-1,36) para vitamina D sola, sin detectarse heterogeneidad. Los 6 ensayos de calcio y vitamina D (45.509 pacientes) muestran un RR de 0,82 (IC 95%: 0,71-0,94) también sin heterogeneidad. La comparación indirecta, ajustada, de los riesgos relativos de los metaanálisis anteriores para el RR de fractura de cadera de vitamina D más calcio frente a vitamina D sola fue de 0,75 (IC 95%: 0,58-0,96), por lo que los autores concluyen que la vitamina D parece reducir el riesgo de fractura de cadera, pero, solo cuando la suplementación se realiza con calcio. Tang et al, en un metanálisis que incluyó ensayos randomizados en los que se administraba calcio o calcio más vitamina D en la prevención de fracturas o de pérdida de masa ósea. En el mismo recogen 29 ensayos (n= 63.897) y emplean un modelo de efectos aleatorios. En los ensayos cuya variable de desenlace fue la fractura (17 ensayos, n= 52.625), el tratamiento se asoció con una reducción del riesgo del 12% (RR 0,88, IC 95%: 0,83-0,95; p= 0,0004). La reducción del riesgo de fractura un 24% mayor en los ensayos en los que la adherencia fue mayor (p< 0.0001). El efecto del tratamiento también fue mejor cuando se emplearon dosis de 1.200 mg o más (0,80 vs. 0,94; p= 0,006), y cuando se emplearon dosis de vitamina D superiores a 800 UI/día (0,84 vs. 0,87; p= 0,03). Para los autores, las evidencias apoyan que se emplee el calcio (1.200 mg/día o más), sólo o acompañado con vitamina D (≥ 800 UI/día) en el tratamiento preventivo de la osteoporosis en personas mayores de 50 años. El tercer metaanálisis aporta datos realmente contradictorios con los previos. Bischoff-Ferrari et al, tras publicar un metaanálisis previo que evidenciaba los efectos beneficiosos de vitamina D a dosis superiores a 600-800 UI/día sobre las fracturas no vertebrales y de cadera y participar en el metaanálisis de Boonen, se plantea en un nuevo metaanálisis el evaluar la relación de la ingestión de calcio sobre el riesgo de fractura de cadera incluyendo estudios de cohortes y ensayos clínicos. En mujeres, (7 estudios prospectivos de cohortes, 170.991 mujeres con 2.954 fracturas de cadera), no encontró asociación entre la ingesta total de calcio y la fractura de cadera (RR por cada 300 mg de calcio/día 1,01; IC 95%: 0,97-1,05). En varones, (5 estudios prospectivos de cohortes, 68.606 varones, 214 fracturas de cadera), el RR por 300 mg de ingestión de calcio diaria fue 0,92 (IC 95%: 0,82- 1,03). Basándose en 5 ensayos clínicos (n= 5.666 mujeres y 1.074 varones) con 814 fracturas no-vertebrales que comparaban los suplementos de calcio (800–1.600 mg/d) y placebo fue 0,92 (IC 95%: 0,81- 1,05). Los 4 ensayos que aportaron resultados separados para fractura de cadera (6.504 sujetos con 139 fracturas de cadera), el RR entre calcio y placebo fue de 1,64 (IC 95%: 1,02-2,64). El análisis de sensibilidad incluyendo 2 pequeños ensayos adicionales o resultados por protocolo, no modificó los resultados, por lo que Bischoff-Ferrari et al. plantean que la ingestión de calcio no se asocia significativamente con la fractura de cadera. La combinación de los resultados de los ensayos controlados no mostró reducción de la aparición de fractura de cadera, siendo incluso posible que la incidencia aumente con los suplementos. Sobre las fracturas no vertebrales, el efecto fue neutro en los ensayos controlados. Por lo tanto, aunque los suplementos de calcio y vitamina D parecen reducir claramente la incidencia de fracturas no vertebrales y de cadera en mujeres de más de 65 años con aporte de calcio y vitamina D insuficiente y en personas institucionalizadas, los efectos del calcio aislado sobre las fracturas osteoporóticas no están bien demostrados por lo que son necesarios más estudios y de mejor calidad metodológica (107-115).

La revisión de la Cochrane puso de manifiesto que la administración de calcio es más efectiva que el placebo para reducir la tasa de pérdida ósea después de dos o más años de tratamiento. Los suplementos de calcio por sí solos tienen un efecto positivo reducido sobre la densidad ósea. Se encontraron efectos pequeños,

pero significativos, de los suplementos de calcio sobre la pérdida ósea durante un periodo de dos años y se observó un efecto mayor del citrato de calcio sobre la masa ósea total y en la cadera pero con tendencia opuesta en columna lumbar. En el estudio WHI se observaron valores superiores de masa ósea en el grupo que recibió calcio y vitamina D respecto al placebo, a lo largo del estudio (9 años); al finalizar éste la masa ósea permanecía estable a nivel de cadera total en el grupo de calcio y vitamina D vs. una pérdida del 1,3% en el grupo placebo. La suplementación láctea (800 mg de calcio y 240 UI de vitamina D) se asocia con una reducción del 50% en la pérdida de masa ósea a los dos años, acompañándose en el grupo tratado de un descenso de los valores de PTH y un incremento de los valores de vitamina D¹⁹. En mujeres que tomaban calcio y a los 5 años se observó: 1) En ultrasonidos de calcáneo y en análisis ajustado por edad, índice de masa corporal (IMC) y cumplimiento en la toma de las tabletas, un incremento significativo en BUA (índice de atenuación del ultrasonido) y elasticidad, pero no en la velocidad de transmisión. 2) En la densitometría DXA, una menor pérdida del contenido mineral óseo (CMO) y área pero no en DMO en cuello de fémur y cuerpo total, tanto en análisis sin ajustar como ajustado por edad, IMC y cumplimiento en la toma de las tabletas. No diferencia en las otras áreas medidas. 3) En QCT periférica de radio un volumen cortical mayor, con efectos favorables sobre índices de resistencia. En el metaanálisis de Tang et al antes citado y en los ensayos en los que la variable evaluada fue el cambio de DMO (23 ensayos, n= 41.419), el tratamiento se asoció en cadera a una reducción de la pérdida ósea del 0,54% (0,35-0,73; p< 0,0001) y en la columna una reducción del 1,19% (0,76–1,61%; p< 0,0001). Los estudios que investigan el efecto de suplementos de calcio de orígenes atípicos como la cáscara de ostra, algas, polvo de huevo, con suplementos vitamínicos etc. describen cambios mínimos en la masa ósea o marcadores de remodelado óseo cuando se comparan con placebo y sin diferencias con respecto a carbonato cálcico. Los suplementos de calcio, especialmente si se asocian a vitamina D, son eficaces para reducir la pérdida de masa ósea (116-119).

En un estudio aleatorizado que incluyó 99 mujeres postmenopáusicas, (edad 66 años y de 15 años de postmenopausia), no se observaron cambios significativas en la masa ósea a largo plazo, ni en los valores de PTH, en mujeres que recibieron 1.450 mg calcio más 400 UI de vitamina D, con respecto al grupo de pacientes que recibieron instrucciones dietéticas para conseguir una ingesta mayor de 800 mg de calcio/día con un objetivo ideal de 1.450 mg. Sólo se observó mayor descenso de PTH en los dos grupos suplementados en el primer año de tratamiento. Este estudio apoyaría la similitud de efectos entre el calcio dietético y el medicamentoso. En el estudio de Prince et al se observó una reducción significativa a los 5 años de los niveles séricos de PTH en el grupo tratado con calcio respecto al placebo. En un estudio con 30 mujeres jóvenes, sin enfermedad ósea metabólica, la administración de calcio, fraccionada en dos o en cuatro dosis a lo largo del día, no influyó en la respuesta de la PTH ni en los marcadores de remodelado óseo. Los efectos del calcio fueron independientes de si se tomaban por la mañana o por la noche. Los suplementos de calcio no tienen efectos significativos en los marcadores de resorción ni de formación ósea. Los resultados no se pueden extrapolar a mujeres postmenopáusicas con osteoporosis. Un pequeño estudio heterogéneo demostró que cambios en la ingesta de calcio modificasen, a corto plazo, el ritmo circadiano de la resorción ósea. En otro estudio prospectivo, randomizado, doble ciego, factorial se determinó el efecto diferencial de 300 mg de calcio diario —en dos formulaciones de leche desnatada— en los marcadores de remodelado óseo en mujeres postmenopáusicas sanas (n= 117; edad entre 49 y 71 años con 10 o más años de postmenopausia); la ingesta dietética de calcio previa fue menor de 750 mg/día. En el grupo A (finalizaron 34): administran leche desnatada fortificada con calcio, fósforo, lactosa y vitamina D₃ (1.200 mg de calcio y 5,7 microgramos de vitamina D₃ cada día). En el grupo B (finalizaron 39): administran leche desnatada fortificada de vitamina D (900 mg de calcio y 5,7 microgramos de vitamina D₃ diaria). La fosfatasa alcalina ósea no se modificó. En ambos grupos el PICP mostró una reducción significativa durante el estudio, pero sin

diferencias entre grupos. No se observaron diferencias en el NTx y únicamente se observaron pequeñas diferencias en Pyr y D-Pyr. El valor medio de 25(OH)D que se observó a los 6 meses se incrementó en 5,56 ng/ml en el grupo A y descendió 1,005 ng/ml en el grupo B. Tomados en conjunto los datos disponibles, los suplementos de calcio parecen tener un efecto escaso sobre los marcadores del remodelado óseo (120-123).

En el estudio RECORD los síntomas gastrointestinales fueron más acusados en el grupo de calcio (16,4%) con respecto a vitamina D (11,9%). En el estudio WHI se observó un incremento significativo en la aparición de litiasis renal (RR 1,17; 1,02- 1,34) en el grupo que recibió suplementos de carbonato cálcico y vitamina D, con una ingesta basal de calcio de 1.100 mg/día y recibiendo 1.000 mg de calcio y 400 UI de vitamina D. Un reciente metanálisis a partir de los datos de 5.500 mujeres participantes en ensayos con monoterapia de calcio sugería que aumentaba el riesgo de fracturas de cadera (RR de 1,5, IC 95% 1,06-2,12)¹⁴. Bolland et al en un análisis secundario a partir de los datos de un ensayo previo, publicado dos años antes por el mismo grupo en el American Journal of Medicine, evalúan en 1.471 mujeres postmenopáusicas de 74 años de edad media el riesgo de infarto agudo de miocardio e ictus cerebral o ambos, 732 tomaban suplementos de calcio y 739 tomaban placebo. Tenían un riesgo mayor de padecer un infarto agudo de miocardio (RR 2,12, IC 95% 1,01-4,47) y una mayor tendencia de padecer algún evento cardiovascular de tres evaluados (infarto agudo de miocardio, muerte súbita o ictus cerebral). Esta descripción ha generado una gran controversia con apoyos y críticas y plantea la revisión de la conveniencia de administración de calcio como monoterapia o asociado con vitamina D y también de cuál debería ser la dosis óptima que no cause efectos cardiovasculares nocivos y en cualquier caso hace necesarios nuevos estudios que incluyan esas variables como objetivos primarios (124, 125).

En la mayoría de países occidentales, España incluida, la mayor proporción (60-70%) del calcio dietético procede de la leche y sus derivados, yogures o quesos. Con la excepción de almendras y otros frutos secos, algunos pescados azules y pequeños pescados, como chanquetes y boquerones, comidos con sus raspas, el pulpo, algunas verduras como acelgas, cardos, lechuga, escarola, endivias, espinacas o los grelos, los productos alimenticios habituales contienen poco calcio. Por ejemplo, el pan, las galletas y la bollería en general, aportan poco calcio, salvo que la harina sea enriquecida en calcio. La valoración de la ingesta dietética de calcio puede efectuarse mediante una encuesta auto administrada por los encuestados, utilizando un cuestionario. Se recoge el recuerdo de las raciones tomadas, cada día, durante siete días, y mediante un simple cálculo se efectúa la media de calcio tomados diariamente. Aunque este procedimiento posibilita los sesgos inducidos por los pacientes, que tienden a contestar la encuesta generalmente hacia el alta, es un procedimiento de manejo fácil y aceptable para la práctica clínica habitual. Cuando se efectúa una valoración de ese tipo y se da consejo dietético, es importante que se consideren las nuevas leches y derivados lácteos suplementado con diversos tipos y cantidades de calcio, que incrementan en cantidad variable el aporte dietético de calcio. También, debe valorarse el aporte de calcio contenido en las aguas minerales este aspecto, cabe considerar que en igualdad de aporte de calcio, las aguas ricas en bicarbonato de calcio, por su efecto sobre el equilibrio ácido-base y la homeostasis calcio-fósforo, son más saludables para el hueso que otras que contengan otras sales de calcio (126-130).

La ingesta de alimentos ricos en calcio y/o la suplementación de calcio es fundamental para el mantenimiento de un balance cálcico positivo y en consecuencia para la integridad esquelética y está recomendado para la prevención de la osteoporosis y sus fracturas por todas las agencias y sociedades científicas. Sin embargo, la influencia e importancia del calcio dietético en la prevención de las fracturas osteoporóticas es objeto de discusión. Un problema cardinal es la necesidad de grandes estudios para proporcionar una evidencia consistente de esta relación dado que el efecto es probablemente modesto. Un

metanálisis reciente describió que una ingesta baja de productos lácteos se asociaba a un mayor riesgo de fractura, aunque sólo alcanzaba la significación estadística en el estrato de edad superior a 80 años. Otro problema importante es que hay pocos trabajos en los cuales se administra solo calcio, sin vitamina D, sea como suplemento en de la leche, o como suplemento farmacológico. En un estudio de 1.471 mujeres postmenopáusicas tratadas con un gramo de citrato de calcio diario durante cinco años aunque aumentó la DMO no se demostró reducción significativa del riesgo de fractura⁶¹. En otros ensayos clínicos prospectivos, el calcio aumentaba la DMO en mujeres osteoporóticas postmenopáusicas. Bischoff-Ferrari et al en un metaanálisis que incluyó cinco ensayos clínicos (5.666 mujeres y 1.074 hombres, con 814 fractura no vertebrales) describieron que el RR agrupado de fracturas no vertebrales de los suplementados con calcio (800-1.600 mg/día) vs. placebo fue de 0,92 (0,81-1,05). Cuando se consideraron 4 ensayos clínicos con resultados separados para la fractura de cadera (6.504 sujetos con 139 fracturas de cadera) el RR agrupado entre calcio y placebo fue de 1,64 (1,02-2,64). Por lo que los autores concluyeron que el calcio dietético o tomado como suplemento no previene el riesgo de fracturas de cadera en hombres y en mujeres y al valorar los estudios de intervención incluso podía aumentarlo hasta un 64%. Sin embargo, otros resultados son aportados por el metanálisis de Tang et al que incluyó 29 estudios con 63.897 pacientes, 92% mujeres de 67,8 años de edad media. Los efectos de calcio solo o en combinación con vitamina D se analizaron en 16 y 13 ensayos respectivamente, de los estudios incluidos 5 describieron los efectos del tratamiento sobre la fractura, 12 sobre la DMO y 12 sobre ambas aunque no empleaba estudios de aporte dietético de calcio, indican que el calcio solo o en combinación con vitamina D se asociaba con una reducción del 12% en el riesgo de fracturas (RR= 0,88, 0,83-0,95; p= 0,0004), con una disminución discreta de disminución de la pérdida ósea en cadera 0,54% y columna 1,2%. Los suplementos de vitamina D \leq 800 UI diarias (20 μ g) no modificaba las acciones inducidas por el calcio. El efecto del tratamiento se incrementaba en personas institucionalizadas, en ancianos mayores de 70 años, en personas delgadas, que previamente tenían una ingesta dietética de calcio baja, y cuando la ingesta de calcio era \geq 1.200 mg/día y se emplearon dosis de vitamina D \geq 800 UI/día. La eficacia del tratamiento observada en el meta análisis también aumentó cuando el cumplimiento fue alto (24% de reducción del riesgo de fractura cuando el cumplimiento fue mayor del 80%).

El pobre cumplimiento de los tratamientos que aportan el calcio y vitamina D mediante suplementos es una descripción habitual en la mayoría de ensayos clínicos, esto puede explicar en parte los resultados negativos de determinados ensayos clínicos y justifica efectuar un aporte de calcio dietético. El metanálisis de Tang et al, está en concordancia con Avenell et al y de Boonen et al. Las aparentes inconsistencias entre estudios vienen dadas fundamentalmente, por factores determinantes diversos: 1) el cumplimiento adecuado de las recomendaciones, 2) la variabilidad en la absorción de calcio, determinada por factores como la secreción ácida gástrica o la influencia en la absorción de otros componentes de la comida, 3) la posible modulación del riesgo de fractura por otros factores dietéticos, como la toma de la cantidad adecuada de proteínas, la composición dietética de la comida en general o el estatus corporal en vitamina D, de gran importancia no solo en la absorción intestinal transcelular de calcio, sino también en la función músculoesquelética y su acción directa sobre la salud del hueso, modificando el riesgo de fractura.

En conjunto las evidencias apoyan que se recomiende el empleo de calcio (\geq 1.200 mg/día), y preferentemente acompañado de vitamina D (\geq 800 UI/día) en el tratamiento preventivo de la osteoporosis en personas mayores de 50 años y avalan el consenso reciente del NIH indicando la importancia la suplementación con calcio para reducir el riesgo de osteoporosis⁶⁵. Sobre estas bases, de un modo genérico la guía de práctica clínica de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral (SEIOMM) de 2008 estableció que los suplementos de calcio y vitamina D reducen la incidencia de fracturas

no vertebrales y de cadera en mujeres de más de 65 años con aporte de calcio y vitamina D insuficiente y en personas institucionalizadas. Estableciendo que las pacientes tratadas con fármacos anticatabólicos o anabólicos deben recibir suplementos adecuados de calcio y vitamina D, con un grado de recomendación A. La Sociedad Norteamericana de menopausia (NAMS) publicó en el 2006 un documento de posición apoyando el papel de calcio en asociado a suficiente vitamina D, para reducir la pérdida ósea en mujeres peri-postmenopáusicas, y en la reducción fracturas en mujeres mayores de 60 años con ingesta baja de calcio dietético. La NAMS recomienda para el tratamiento de la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas que se tomen 1.200 mg. de calcio y 700-800 UI de vitamina D, cada día que estiman aptas para mantener niveles séricos de 25(OH)D suficientes de vitamina D (≥ 30 ng/mL) (ver más atrás).

Se recomiendan preferentemente los alimentos como fuente principal de calcio, y se consideran los suplementos y los alimentos enriquecidos en vitamina D como fuentes alternativas. Previamente la guía clínica de osteoporosis del Canadá publicada en el 2002 recomendaba la toma preferentemente dietética de al menos 1.500 mg. de calcio y de 800 IU diarios de vitamina D66 y los endocrinólogos de estados Unidos confirmaban los requerimientos para la vitamina D y establecían un aporte de calcio de 1.200 mg diarios. Más recientemente, la guía Europea para el diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis recomienda el empleo de al menos 1.000 mg. de calcio y 800 UI de vitamina D diarias. La National Osteoporosis Foundation (NOF) en su guía para la prevención y tratamiento de la osteoporosis apoya la recomendación de la National Academy of Sciences (NAS) y recomienda a todas las personas que deben tener una ingesta adecuada de calcio. Al menos 1.200 mg. cada día, añadiendo los suplementos a la dieta cuando sea necesario, y 800-1.000 UI de vitamina D. Ingestiones de calcio superior a 1.200-1.500 mg. de calcio diario, añaden un beneficio potencial limitado, y pueden aumentar los riesgos cardiovascular o de litiasis renal asociados. Aunque las agencias Americana y Europea dan como segura una ingesta máxima de 2.500 mg. de calcio diario, la posible aparición de efectos cardiovasculares y otros efectos adversos como la litiasis renal, hacen que la cantidad de calcio recomendada como segura, probablemente sea menor. En cualquier caso, dada la íntima relación entre el estatus corporal de vitamina D y la absorción de calcio, no deberían plantearse niveles de ingesta de calcio recomendados de modo genérico, sino en relación con los niveles séricos de vitamina (131-142).

La ingesta dietética de calcio, está por debajo de las recomendaciones de agencias y sociedades en la mayoría de encuestas realizadas. Cuando las encuestas consideran el total de los alimentos, la ingesta de calcio dietético es de 991 ± 359 mg. diarios para Orozco et al, 1.074 ± 374 mg/día para Bruyere, 1.019 ± 460 mg/diarios para Quesada et al y 1.326 ± 588 mg/día para Úbeda. El aporte estimado de calcio en forma de lácteos es de un 70%, y un 30% de otros alimentos, que supone unos 200-400 mg/día (51,71, 72). Sobre esta base, se han efectuado encuestas para calcular la ingesta de calcio a partir del calcio aportado por lácteos, describiéndose un consumo medio de lácteos de 684 mg/día, 699 mg/día, 788 mg/día, 769 mg/día, 783 mg/día, 569 mg/día y 909 mg/día. En un estudio caso-control de 410 pacientes (342 mujeres y 68 varones 83 ± 7 años con fractura de cadera vs. 544 controles (339 mujeres y 205 varones 77 ± 9 años) se evaluó el calcio aportado procedente de lácteos que fue de 574 ± 326 en los controles vs. 645 ± 359 mg/día en los no fracturados ($p= 0,002$)80. El calcio administrado con la dieta tiene diversas ventajas sobre el administrado farmacológicamente, en forma de suplementos, la más importante es que por sí mismo se optimiza el pH gástrico, que facilitará su absorción. El/la paciente no tiene sensación de estar en tratamiento, lo que significa una gran mejoría en su calidad de vida, mejorando la adherencia, fundamental en tratamientos crónicos. Debemos destacar o que un paciente que no tome lácteos por cualquier causa no alcanzará en el mejor de los casos los 400 mg de calcio diario obtenidos con otros alimentos de la dieta diaria (143-151).

3.8. VITAMINA D Y HUESO

El organismo obtiene vitamina D por la exposición al sol (más del 90%) y a partir de la dieta normal o suplementada. La irradiación ultravioleta B (UVAB) procedente del sol penetra en la epidermis y convierte al 7-dehidrocolesterol en pre-vitamina D₃, que se convierte rápidamente en vitamina D₃. Una irradiación UVAB excesiva no produce intoxicación de vitamina D porque las pre-vitamina D₃ y vitamina D₃ sintetizadas en exceso se degradan a metabolitos inactivos biológicamente. Es importante recordar que por encima de 33º N de latitud, toda la península ibérica, en los meses de invierno no se sintetiza vitamina D ni tampoco se sintetiza si el sol se toma tras cristales o con protección dérmica ni tampoco en ciudades con una contaminación elevada. Los alimentos constituyen un aporte menor de vitamina D porque pocos alimentos la contienen, principalmente pescados azules, algunas setas irradiadas y los que están suplementados con vitamina D (152).

En realidad no existe una vitamina sino una familia de esteroides con esta actividad. Cuando hablamos de vitamina D de modo genérico nos referimos a vitamina D₃ (colecalfiferol) o D₂ (ergocalciferol), la primera fisiológica en el ser humano, la segunda obtenida por la irradiación UV del ergosterol contenido en levaduras. Históricamente se pensaba que para mantener los niveles séricos adecuados de 25OHD la vitamina D₂ era menos eficiente que la vitamina D₃, debido a su metabolismo más rápido, un ensayo a corto plazo ha demostrado que ambas son equipotentes. La vitamina D absorbida con los quilomicrones o sintetizada en la piel, y más adelante también sus metabolitos, circula unida a una lipoproteína transportadora (DBP) y es liberada en el hígado, donde sufre una hidroxilación por acción de la 25 hidroxilasa (25-OHase; CYP27A1), para formar la 25 hidroxivitamina D (25OHD; calcifediol). El metabolito 25OHD tiene una elevada concentración y prolongada vida media (dos o tres semanas), por lo que se emplea para evaluar el estatus corporal de vitamina D, y constituye el sustrato para la formación de la 1,25dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂ D; calcitriol u hormona D), metabolito hormonalmente activo del sistema endocrino de la vitamina D. El complejo 25OHD y DBP, en la membrana plasmática de las células tubulares renales se une a cubilina y megalina que transportan la 25OHD dentro de la célula, donde es liberada y en la mitocondria por acción de la 25-hidroxi-vitamina D-1α-hidroxilasa (1-αOHase; CYP27B1) se sintetiza 1,25(OH)₂ D (calcitriol). La formación renal está regulada estrechamente; es estimulada por la hormona paratiroidea (PTH), hipocalcemia e hipofosfatemia, e inhibida por la hipofosfatemia, y el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF 23), y el calcitriol por sí mismo. La función endocrina más conocida del calcitriol es mantener la homeostasis calcio-fósforo, fundamental en múltiples funciones metabólicas, mantenimiento de la transmisión neuromuscular y mineralización correcta del hueso, actuando en paratiroides, intestino, hueso y riñón. El calcitriol actúa sobre los receptores de membrana, y receptor nuclear de la vitamina D (VDR), formando la estructura: 1,25(OH)₂ D-VDR que en el núcleo forma un heterodímero con el receptor de ácido retinoico (RXR) formando el complejo 1,25(OH)₂ D-VDR-RXR el cual se une a elementos de respuesta a la vitamina D (VDRE) modulando la respuesta de un gran número de genes. En el intestino, promueve la absorción intestinal de calcio activando el canal epitelial del calcio, que facilita la entrada de calcio a la célula y, también, de la proteína ligadora de calcio (CaBP, calbindina 9K), que facilita la translocación a capilares intestinales y a la circulación general. La hormona D, también facilita la absorción de fósforo, contribuyendo así a la calcificación de la matriz ósea. Cuando el aporte dietético de calcio es insuficiente la 1,25(OH)₂ D ayuda a mantener la homeostasis cálcica actuando en el VDR de los osteoblastos para inducir la expresión de una proteína de membrana activadora del receptor del ligando NF-κβ de membrana (RANKL). El RANK de la membrana plasmática de los monocitos, precursores de los osteoclastos, se une con el RANKL,

contribuyendo a su transformación en osteoclastos maduros, que resorben hueso y liberan calcio y fósforo a la circulación; en el riñón, la 1,25(OH)₂D estimula la reabsorción de calcio del filtrado glomerular (153, 154).

En estados de deficiencia en vitamina D puede disminuir la absorción de calcio un 15-30% y la de fósforo hasta un 60-40%; disminuye el calcio sérico ionizado lo cual es detectado por los sensores de calcio (CaR) de las glándulas paratiroides, resultando en un aumento de la síntesis y secreción de PTH. La PTH conserva calcio aumentando la reabsorción tubular proximal y distal del mismo y movilizándolo desde el hueso. La PTH aumenta la expresión de RANKL en los osteoblastos al igual que la 1,25(OH)₂D, aumentando la formación de osteoclastos maduros que movilizan calcio y fósforo desde el hueso. La PTH disminuye la reabsorción tubular renal de fósforo, condicionando pérdida de fósforo por la orina e induce la formación de 1,25(OH)₂D, que aumentará la absorción intestinal de calcio y fósforo.

Además de en esos órganos diana y acciones endocrinas que podíamos denominar “tradicionales” o “clásicas” que regulan la homeostasis calcio-fósforo y óseas, el sistema endocrino de la vitamina D tiene multitud de funciones auto-paracrina a través de la 1,25(OH)₂D. La mayoría de tejidos y células, normales o neoplásicas, como músculo, corazón, vasos sanguíneos, cerebro, mama, colon, próstata, páncreas, piel y sistema inmune, entre otros, poseen VDR y enzimas activadoras del 25OHD como la 1 α hidroxilasa (1- α OHase; CYP27B1) para sintetizar 1,25(OH)₂D, la cual, en esas localizaciones a diferencia del riñón no está regulada por PTH. La producción de calcitriol depende de la disponibilidad de 25OHD circulante, lo que indica la importancia biológica de los niveles sanguíneos suficientes de este metabolito de la vitamina D. También poseen enzimas inactivadoras, como la 24 hidroxilasa (CYP44A1) la que cataboliza tanto la 25OHD como la 1,25(OH)₂D a 24,25(OH)₂D y 1,24,25(OH)₃D respectivamente, para acabar formando ácido calcitroico hidrosoluble, e inactivo biológicamente que es excretado a la bilis^{1,5,6}. La 1,25(OH)₂D se une a su VDR de alta afinidad y regula la transcripción de más de 2.000 genes del genoma humano, regulando el crecimiento y maduración celular, modulando su apoptosis, inhibe angiogénesis, producción de renina, incrementa la secreción de insulina y la sensibilidad a la misma, modulando la función de linfocitos B y T activados y de macrófagos donde regula la producción de catelicidina entre otras (155-157).

Por todo ello, el sistema endocrino de la vitamina D es crítico no solo para mantener la salud ósea, sino la de todo el organismo en su conjunto. Para el mantenimiento de sus múltiples funciones es básico el mantenimiento de un estatus adecuado de 25OHD, sustrato para la síntesis de la hormona D o calcitriol tanto en riñón como en otras células o tejidos y su medición es comúnmente aceptada como indicador clínico del estatus en vitamina D. En un principio las determinaciones de 25OHD se hacían empleando métodos de competición proteica (CBP) y en centros de investigación cromatografía líquida de alta presión (HPLC). En los años noventa se validaron métodos de radioinmunoanálisis (RIA), posteriormente el reconocimiento de la magnitud de la insuficiencia en vitamina D estimuló el desarrollo de otros métodos como ELISA, (acrónimo de “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay”) o quimioluminiscencia. Pero, aún hoy, un problema crítico en la determinación de 25OHD lo constituye la precisión y reproducibilidad de cada uno de los métodos disponibles. La aplicación clínica de HPLC acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) ha mejorado el rendimiento de la determinación de 25OHD y facilitando la puesta en marcha de medidas internacionales de estandarización que certifiquen la calidad de la metodología como por ejemplo la DEQAS (Vitamin D External Quality Assessment Scheme) y aunque sigue siendo imprescindible que se disponga de estándares internacionales contrastados de calibración, datos muy recientes del 2006 demuestran valores comparables usando técnicas de RIA y HPLC en tándem con LC-MS. Pese a la variabilidad entre los métodos disponibles para medir vitamina D y aunque no hay consenso universal plenamente establecido sobre niveles de 25OHD adecuados, cada vez es mayor el acuerdo de que una concentración de 25OHD mayor de

30 ng/mL (para pasar a nmol/L multiplicar por 2'5) podría constituir un estatus óptimo de vitamina D que asegure la salud ósea, aunque probablemente se necesita una concentración más alta para asegurar otros objetivos de salud. Por tanto, se considera que una concentración sérica mínima deseable de 25OHD debería ser superior a los 20 ng/mL en todas las personas, lo cual implica una media en toda la población cercana a los 30 ng/mL. De tal manera que los pacientes tendrán deficiencia severa de vitamina D con niveles séricos de 25OHD menores de 10 ng/mL, deficiencia moderada, también llamada insuficiencia, cuando los niveles séricos de 25OHD están entre 10 y 20 ng/mL; y estado subóptimo de 25OHD entre 20 y 30 ng/mL. Aunque no se han definido claramente los niveles séricos óptimos de calcifediol se pueden deducir de poblaciones muy expuestas al sol, en las cuales es muy difícil encontrar una concentración sérica de 25OHD por encima de 65-70 ng/mL, por lo que conseguir unos niveles entre 30 y 60-70 ng/L de 25OHD parece fisiológicamente saludable (158, 159).

En la actualidad, la existencia de niveles insuficientes de vitamina D o incluso deficiencia franca constituye una epidemia en todo el Mundo y también en España, que afecta a más de la mitad de la población. Descrita en niños, jóvenes, adultos, mujeres posmenopáusicas y ancianos, sobre todo si tienen fracturas osteoporóticas (donde la prevalencia de deficiencia en calcifediol llega al 100%), con resultados similares en España. Los diferentes métodos empleados y la variación inter-laboratorio hace complicada una comparación rigurosa, pero en España, pese una teórica facilidad climatológica para la formación cutánea de vitamina D los niveles son semejantes o inferiores a los encontrados en Europa central o Escandinavia, como ya se había descrito en trabajos previos. Esta aparente “paradoja” que compartimos con otros países de la cuenca del Mediterráneo, ha tratado explicarse, porque el escaso aporte dietético de vitamina D no puede ser compensado por la síntesis cutánea, pues la mayor parte de España está ubicada por encima del paralelo 35 donde la posibilidad de sintetizar vitamina D es escasa en invierno y primavera y los españoles tienen una piel más oscura que los habitantes de países más septentrionales. La insuficiencia de vitamina D se encuentra ya en niños o en jóvenes y persiste en adultos, con variación estacional que apenas llega a normalizarse después del verano-otoño en los estudios realizados. Destaca la elevada prevalencia de insuficiencia de vitamina D, independientemente de la zona geográfica y del punto de corte establecido por los distintos autores, en mujeres postmenopáusicas españolas y en ancianos españoles. Sin embargo, aunque esta elevada prevalencia de niveles bajos de vitamina D ocurre por una inadecuada exposición al sol, en ancianos se han descrito niveles más bajos los meses de verano, debido a las elevadas temperaturas que ocurren en esta época en ciudades del sur de España como Murcia o Córdoba, donde frecuentemente alcanzan los 30 y 45o C; las personas ancianas evitan estar al sol y prefieren estar en el interior de su domicilio donde la temperatura es más confortable, además los ancianos están muy advertidos del riesgo de cáncer de piel por la exposición directa al sol, pero en otoño o durante los meses de invierno se benefician de una temperatura más favorables (20–25°C), que les permite tomar el sol con ropa ligera y sintetizar vitamina D. Los resultados de un estudio transversal llevado a cabo en unidades de estudio y tratamiento de osteoporosis en toda España al final de la primavera, demuestran que un 76% de mujeres posmenopáusicas osteoporóticas sin tratamiento presentan niveles de Calcifediol por debajo de 30 ng/L y un 63% de mujeres tratadas por osteoporosis, 44% respectivamente para niveles menores de 20 ng/ml), consistente con otros resultados previos en España, Europa o Estados Unidos de Norteamérica. Esto cuanto menos resulta “paradójico” puesto que el tratamiento con vitamina D está recogido por todas las guías de tratamiento de la osteoporosis del mundo y de España (160-174).

Las consecuencias en el esqueleto de la deficiencia en vitamina D se derivan de la disminución en la absorción intestinal de calcio, con hiperparatiroidismo secundario, aumento del recambio óseo y deterioro de la densidad mineral ósea, responsables de las propiedades mecánicas del hueso; por otra parte disminuye

la masa, fuerza y el tono muscular, y aumento de caídas, con un mayor riesgo de fractura. Los niveles séricos de 25OHD tienen un umbral, por encima de la cual la vitamina D optimiza la absorción de calcio, y para normalizar el calcio sérico no se precisa participación de PTH; Este umbral varía entre 20 y 50 ng/mL. Estos datos son consistentes con los proporcionados por la Tercera Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES III) que informó que una mayor DMO de cadera se asocia con niveles más elevados de 25OHD en un rango de referencia entre 10 y 40 ng/mL en todos los grupos de edad, etnias y niveles socioeconómicos de las personas evaluadas y, lo que es más importante, cuando se consiguen niveles adecuados de vitamina D, es decir por encima de 20 o 30 ng/mL, se precisa un aporte menor de calcio dietético para conseguir una mayor DMO³⁶. La debilidad muscular proximal es una característica clínica destacada de la deficiencia de vitamina D; los niveles de 25OHD se asocian con la función de las extremidades inferiores, mejorando progresivamente hasta 40 ng/ml. Una revisión sistemática muestra que la suplementación con vitamina D con dosis diarias de 800 a 1000 UI tiene claros efectos beneficiosos sobre fuerza muscular y equilibrio. Varios ECA han reportado efectos positivos de suplementos de vitamina D sobre la función muscular y la prevención de caídas, y fracturas.

Un metaanálisis de los datos de ECA describe una relación dosis-respuesta entre la dosis de vitamina D y niveles más altos obtenidos en suero de 25OHD en la prevención de caídas y fracturas. El mayor beneficio se observa administrando de 700 a 1000 UI/día o con niveles de 25OHD entre 30 y 44 ng/ml. Resultados similares de la administración de suplementos de vitamina D por vía oral se encuentran en un reciente metaanálisis con datos de 11 ECAs doble ciego, agrupados a nivel de sujetos participantes con o sin calcio vs. placebo o calcio solo, en personas ≥ 65 años; la reducción en el riesgo de fractura se produce sólo en el más alto nivel de ingesta de vitamina D (mediana, 800 UI / día; rango, 792 -2.000), con una reducción del 30% en el riesgo de fractura de cadera y una reducción del 14% en el riesgo de cualquier fractura no vertebral. Aunque varios metaanálisis previos habían sugerido que la dosis de vitamina D es irrelevante cuando la vitamina D se combina con el calcio, estos datos apoyan que los mejores resultados para reducir el riesgo de fracturas se obtienen con las dosis mayores de 800 UI vitamina D y si se consiguen niveles de 25OHD por encima de 24 ng /ml. Todas las guías y consensos terapéuticos para la prevención y tratamiento de la osteoporosis indican el aporte de calcio y vitamina D. Para el tratamiento de la osteoporosis la mayoría de Sociedades Científicas recomiendan un aporte de calcio de 1.000 mg diarios mientras que la dosis de vitamina D más comúnmente recomendada se sitúa entre 800 y 1.000 UI de vitamina D. Por lo cual, la mayoría de los suplementos farmacológicos de calcio disponibles se asocian con vitamina D. Desafortunadamente la toma de comprimidos de calcio y vitamina D, tiene el mayor incumplimiento terapéutico en el tratamiento de la osteoporosis por intolerancia gastrointestinal preferentemente, de tal manera que en España algo menos del 50%, mantienen el tratamiento después de un año de la indicación del mismo; esto lleva consigo que no se consigan niveles séricos de 25OHD adecuados en mujeres posmenopáusicas osteoporóticas en nuestro país ni aún en mujeres osteoporóticas, lo cual es causa reconocida e importante de fracaso terapéutico de agentes antirresortivos como los bisfosfonatos. Teniendo en cuenta los hábitos nutricionales españoles y los datos de encuestas dietéticas conocidas en nuestra población se podría conseguir el aporte de calcio necesario mediante dieta, aumentando el consumo de leche y derivados y administrar vitamina D junto con los agentes ósteoactivos para optimizar la respuesta terapéutica de estos (175-191).

3.9. VITAMINA K2 Y HUESO

La vitamina K2 incluye un rango de formas de vitamina K referidas como menaquinonas-n (MK-n), donde la n refleja el número de unidades repetidas de 5-carbonos. Las principales menaquinonas de la dieta incluyen

desde la MK-4 a la MK-10, y se consumen principalmente en alimentos que contienen grasa, la cual puede favorecer su absorción y biodisponibilidad comparados con la filoquinona. Las menaquinonas son producidas especialmente por las bacterias, excepto la MK-4 (o menatetrenona). A pesar de su baja biodisponibilidad en los alimentos, la MK-4 es la forma predominante de vitamina K en el organismo. Por ello, algunos científicos sugieren que la MK-4 es producida a través de la conversión endógena de las filoquinonas endógenas y de las MK-7, 8, y 92. Natto, un condimento japonés de soja fermentada, es la fuente dietética más rica en menaquinonas (especialmente en MK-7) que se conoce en la actualidad. Las menaquinonas de más larga cadena (MK-10 a MK-13) son producidas por las bacterias anaeróbicas del colon, pero tienen muy baja biodisponibilidad y poca actividad como vitamina K. La MK-7 es la que tiene mayor biodisponibilidad y una mayor vida media comparada con la filoquinonas y MK-43 (192, 193).

La vitamina K de la dieta se absorbe en el intestino delgado a través de un proceso que requiere la presencia de sales biliares. Después de la absorción intestinal, la vitamina K₂ es transportada en lipoproteínas ricas en triglicéridos (quilomicrones) por la circulación linfática hacia el hígado y otros tejidos. Las menaquinonas son transportadas a través de lipoproteínas de baja densidad desde el hígado hacia los tejidos extrahepáticos, tales como el hueso. La excepción es la MK-4, la cual es transportada por las lipoproteínas tanto de baja densidad como de alta densidad. Las menaquinonas de larga cadena son almacenadas fundamentalmente en el hígado, mientras que la MK-4 se almacena predominantemente en el cerebro, los órganos reproductores, el páncreas y las glándulas (194).

La vitamina K es el cofactor esencial de la gammacarboxilación de las proteínas con residuos gamma-carboxiglutámico (Gla), facilitando la conversión postranslacional de ácido glutámico (Glu) a residuos Gla en las proteínas dependientes de la vitamina K y activándolas. Está involucrada en la regulación del manejo del calcio en el organismo. Aunque la vitamina K previene las calcificaciones vasculares y de los tejidos blandos, también promueve la integración del calcio en el hueso. Hay 3 proteínas vitamina K-dependientes en el hueso: la osteocalcina (también llamada bone Gla protein), la proteína Gla de la matriz y la proteína S. El efecto de la vitamina K en la osteocalcina es quizás el mejor entendido entre ellas. La osteocalcina es sintetizada por los osteoblastos durante la fase de mineralización de la formación ósea y es esencial para la formación de cristales de hidroxapatita. Tiene tres residuos Glu, y su capacidad para unirse al mineral depende de la gamma-carboxilación dependiente de la vitamina K. Aunque los factores de la coagulación vitamina K-dependientes están 100% gamma-carboxilados, tal y como se encuentran en las recomendaciones dietéticas al uso, la osteocalcina sérica puede estar no carboxilada por encima del 40%. Se ha demostrado que los suplementos ya con MK-4 o MK-7 producen una carboxilación similar de la osteocalcina. Sin embargo, la suplementación con MK-7 parece ser más efectiva en carboxilar la osteocalcina que la suplementación con filoquinonas 2. Además de la gamma-carboxilación de la osteocalcina, la vitamina K puede afectar la transcripción genética requerida para la expresión de los marcadores osteoblásticos y así afectar a la síntesis de colágeno. Además, la vitamina K puede también suprimir la reabsorción ósea y la osteoclastogénesis. In vitro y en estudios con animales, se ha sugerido que MK-4 puede estar relacionada con la regulación de la inflamación, el estrés oxidativo y la apoptosis, los cuales pueden disminuir la reabsorción ósea. En un estudio realizado en osteoblastos, se observó que MK-7 suprime la diferenciación del osteoblasto e induce mRNA de osteocalcina, osteoprotegerina y RANKL. Además, la vitamina K₂ puede actuar en el hueso a través de una función reguladora de la transcripción, induciendo la expresión del gen del receptor xenobiótico esteroideo (Steroid and xenobiotic receptor, SXR), que se expresa principalmente en el hígado y en el intestino regulando la expresión de enzimas citocromo P-450 (CYP3A4 y CYP2C8) y de la familia de transportadores de ATP, como MDR1 y MRP2. La vitamina K modula la expresión de marcadores

óseos osteoblásticos a través del SXR, favoreciendo la formación ósea, por lo que el SXR está probablemente involucrado también en el mantenimiento de la homeostasis ósea (195-199).

En la mayoría de estudios observacionales, bajos niveles séricos de vitamina K1, baja ingesta de vitamina K1, baja ingesta de vitamina K2 (MK-7), y altos niveles séricos de osteocalcina no carboxilada, se han asociado con un aumento del riesgo de fracturas de cadera. Por ejemplo, en el Nurses' Health Study, realizado en mujeres entre 30 y 88 años (n=72.327), con una ingesta de filoquinonas inferior a 109 µg/día, tenían un aumento del riesgo de fractura a 10 años mayor comparadas con las que tomaban un ingesta superior de filoquinona. De manera similar en el Framingham Heart Study, en un grupo de 888 hombres y mujeres con una edad media de 75 años y una media de ingesta de filoquinona de 56 µg/día, se observó que tenían un mayor del riesgo de fractura de cadera en los siguientes 7 años, comparados con los que ingerían una media de 254 µg/día. En este estudio no existió asociación entre la ingesta de vitamina K y la DMO. Aunque pocos estudios han mostrado, de manera global, asociación entre la baja ingesta de vitamina K y disminución de la DMO en mujeres, hay menos evidencia entre la asociación de altos niveles de ingesta de vitamina K1 y aumento de la DMO en los estudios observacionales. Estos estudios sugieren que una adecuada ingesta de vitamina K puede ser necesaria para reducir la reabsorción ósea; que las necesidades para mantener una adecuada salud ósea deben ser mayores que los valores de ingesta adecuada propuestos y que, una vez que las necesidades de vitamina K para la salud ósea se alcanzan, no es necesario una ingesta adicional. Además, una limitación mayor de estos estudios es que ingestas elevadas de vitamina K1 puede ser indicador de ingesta de alimentos que contienen otros nutrientes protectores del hueso, como el calcio, magnesio, potasio y compuestos fitoquímicos. Por ello, en base a los hallazgos de los estudios observacionales, no podemos concluir que la vitamina K, tenga un efecto protector independiente de la salud ósea (200-203).

Varios ensayos clínicos en diferentes poblaciones han examinado el efecto de la vitamina K en la DMO. Dos revisiones sistemáticas y meta análisis han realizado un resumen de estos ensayos clínicos. En la revisión más reciente, publicada en 2012, Fang et al recopilan los datos de 17 ensayos con vitamina K en la población sana y en pacientes con osteoporosis primaria y secundaria mayores de 18 años. Incluyen 10 ensayos con vitamina K2 (8 con MK-4 a dosis de 15-45 mg/día y 2 con MK-7 a dosis de 0,2-3,6 mg/día) y 7 ensayos con vitamina K1 (0,2-10 mg/día). En el análisis general, los autores mezclaron los resultados de todos los ensayos con vitamina K y examinaron los cambios en la DMO. Observaron que la suplementación con vitamina K no tenía efecto en la DMO en el cuello femoral, pero aumentaba la DMO en la columna lumbar un 1,3% (intervalo de confianza del 95% [95% CI]: 0,5-2,1) después de 6-36 meses de suplementación. En un análisis de subgrupos según la vitamina K, la vitamina K2 aumenta la DMO en la columna lumbar una media de 1,8% (95% CI: 0,9-2,8), mientras que la vitamina K1 no tiene efectos. El efecto terapéutico en la DMO en columna lumbar fue mucho mayor en las poblaciones asiáticas que en las occidentales. Sin embargo, cuando los autores excluyeron los estudios con alto riesgo de errores metodológicos por la existencia de otros factores, no encontraron efectos significativos de la vitamina K a nivel lumbar. Fang et al advirtieron sobre los errores estimados del efecto del tratamiento en este metaanálisis, debidos a las grandes diferencias de los grupos estudiados, a las diferencias en la calidad metodológica de los ensayos seleccionados y a los errores de las publicaciones.

El efecto de los suplementos de la vitamina K2 sobre las fracturas se basa en 8 ensayos clínicos realizados en pacientes japoneses con osteoporosis primaria y secundaria. Un estudio clínico aleatorizado entre 325 mujeres postmenopáusicas que recibían placebo o 45 mg/día de vitamina K2 (MK-4 o menatetrenona) durante tres años, valoró el contenido mineral óseo (CMO) y la geometría de la cadera por DEXA. Los índices de fortaleza ósea fueron calculados por DEXA (DMO), anchura del cuello de fémur (FNW) y longitud del eje

del fémur (HAL). Se observó que la vitamina K2 no afectaba a la DMO, pero el CMO y la FNW se incrementaron en relación al placebo. En el grupo tratado con vitamina K2 la fortaleza ósea de la cadera no varió, mientras que descendió significativamente en el grupo tratado. Una revisión sistemática realizada en 2006 con meta análisis de 7 ensayos clínicos mostró que la suplementación con MK-4, 15-45 mg/día durante 12-24 meses, reducía significativamente las fracturas de cadera (odds ratio [OR]: 0,23, 95% CI: 0,12- 0,47), las vertebrales (OR: 0,40, 95% CI: 0,25-0,65) y las fracturas no vertebrales (OR: 0,19, 95% CI: 0,11–0,35)¹⁸.

Sin embargo, otro ensayo mayor, publicado en 2009, aporta una conclusión diferente. Se trata de un amplio ensayo abierto en fase IV realizado con 4.378 mujeres japonesas osteoporóticas con o sin fracturas vertebrales prevalentes que recibieron durante 3 años suplementos de MK-4 y calcio, y un año de seguimiento durante el cual no se impuso ninguna restricción al uso de medicaciones para la osteoporosis. El tratamiento combinado con MK-4, 45 mg/día (dividido en tres dosis de 15 mg cada una) y calcio, o el tratamiento con calcio solo, no se asoció con cambios en la incidencia de las fracturas vertebrales a los 3 años (5,9% vs. 5,7%) ni en la incidencia de todas las fracturas clínicas a los 4 años (2,5% vs. 2,1%). Sin embargo, en uno de los 11 grupos no ajustados, en un análisis post-hoc, los investigadores encontraron una reducción estadísticamente significativa en la aparición de nuevas fracturas vertebrales, en un subgrupo de mujeres con más de 5 fracturas vertebrales prevalentes (20,3% vs. 33,2%, $p=0,03$). Más recientemente, un ensayo aleatorizado, a doble ciego, realizado en 2013 con MK-7 comparado con placebo durante 3 años en 244 mujeres holandesas postmenopáusicas sin osteoporosis, encontró una mujer con nueva fractura vertebral en el grupo MK-7 group ($n=120$) y 6 en el grupo placebo ($n=124$), pero eran demasiado pocas fracturas para que la diferencia fuera estadísticamente significativa entre los dos grupos. Examinando toda la literatura publicada hasta la fecha, la suplementación con vitamina K2 puede proteger contra las fracturas pero los datos son poco consistentes. La evidencia del efecto de la suplementación con vitamina K1 en las fracturas es más limitada, y basada principalmente en un estudio único, ya que el resto de los ensayos con vitamina K1 no están diseñados para analizar fracturas. Este estudio es un ensayo clínico controlado, aleatorizado, a doble ciego, realizado en 440 mujeres postmenopáusicas canadienses con osteopenia. Muestra un efecto estadísticamente significativo con la administración de vitamina K1, 5 mg/día, en la reducción de todas las fracturas después de 2-4 años de suplementación (9 mujeres con 11 fracturas en el grupo tratado con vitamina K1 vs. 20 mujeres con 21 fracturas en el grupo placebo; (hazard ratio 0,48, 95% CI: 0,20-0,98), aunque la fractura fue un resultado secundario del ensayo (204-208).

Las diferencias de los hallazgos en los diversos estudios sobre el efecto de la vitamina K en la DMO y las fracturas pueden ser explicadas por las diferentes formas de vitamina K utilizadas, por la ingesta basal de vitamina K de cada uno de los grupos, por el nivel de la ingesta de calcio y vitamina D en cada uno de los grupos, o por diferencias en las poblaciones estudiadas. Por ejemplo, los estudios japoneses usan como vitamina K2 la MK-4 y los estudios europeos utilizan MK-7, mientras que los estudios en Norteamérica usan principalmente vitamina K1. Los ensayos clínicos japoneses con MK-4 tenían varios problemas en su metodología, como falta de estudios ciegos, alta tasa de abandono y falta de aleatorización. Los participantes de estos estudios eran de más edad, con osteoporosis primaria o secundaria, posiblemente con bajo niveles de vitamina D e ingesta pobre en calcio, y con un riesgo basal de fractura elevado. Por estas razones, no es posible generalizar estos resultados con los obtenidos en los ensayos con MK-4 realizados en mujeres postmenopáusicas sanas con niveles de vitamina D normales e ingesta de calcio aceptables. Además, no se han realizado estudios con suplementación con vitamina K1 en los que la fractura fuera el principal resultado a considerar. Por ello, no podemos concluir de una manera contundente sobre el efecto global de los suplementos de vitamina K en la prevención de las fracturas.

Los suplementos de vitamina K son bien tolerados y seguros en la mayoría de los casos. Algunos estudios han reportado efectos raros de la suplementación con MK4 (menatetrenona), tales como la incidencia de lesiones cutáneas y efectos gastrointestinales menores. Unos pocos estudios han mostrado que los suplementos de vitamina K1 pueden afectar al perfil lipídico, a la sensibilidad a la insulina y a los niveles de glucemia. La vitamina K puede disminuir el efecto de los anticoagulantes como la warfarina. Las personas que toman warfarina deben ser advertidas para que eviten consumir suplementos y alimentos que contengan vitamina K. También se han descrito interacciones con antilipémicos o antidiabéticos (209).

Se ha propuesto que la no carboxilación de la osteocalcina afecta adversamente a la capacidad de la osteocalcina para unirse al mineral del hueso. Sin embargo, los estudios realizados en los que logran un nivel de osteocalcina carboxilada adecuado o máximo, no se corresponden con mejoría de la DMO. Es posible que los efectos de la vitamina K en la DMO sean más prominentes en las poblaciones que tienen osteoporosis o aquéllas con déficit de vitamina D, ya que hay interacción entre la vitamina K y la vitamina D. Tampoco se observa efecto de la vitamina K en la DMO en los sujetos con niveles de vitamina K adecuados. Probablemente los efectos de la vitamina K en la DMO sean más positivos en aquellos sujetos con déficit de vitamina K, como los malnutridos o los afectados de enfermedades que interfieren en su síntesis o absorción. A pesar de los mínimos efectos en la DMO, la vitamina K puede tener un efecto protector de las fracturas. Es posible que la vitamina K ejerza su efecto a través de la carboxilación de la proteína GLA de la matriz, efecto que puede no ser detectado a través de la medición de la DMO. Además del papel de la vitamina K en la gamma-carboxilación, existen otros mecanismos en el hueso que son dependientes de la vitamina K y que pueden afectar el riesgo de fractura. Por ejemplo, el efecto de la vitamina K en las fracturas puede ser mediado a través de los efectos en la calidad ósea, geometría o resistencia. Serían necesarios estudios futuros para aclarar estos puntos. En conclusión, la vitamina K es importante para la salud el hueso. Una ingesta baja de vitamina K, niveles circulantes bajos de la misma o altos niveles de osteocalcina no carboxilada se asocian con un incremento de las fracturas de cadera en los estudios observacionales. Sin embargo, los resultados de los ensayos clínicos no son concluyentes, lo que conlleva la duda de si la suplementación generalizada con vitamina K1 o K2 reduce el riesgo de fracturas vertebrales o no vertebrales. Probablemente la realización de nuevos estudios en poblaciones con bajo nivel sérico de vitamina K o ingesta baja de la misma podrán aclarar el papel de la vitamina K en la prevención de las fracturas (210).

4. HIPÓTESIS

Se ha realizado un estudio que pretende analizar la influencia de la ingesta de distintos preparados lácteos enriquecidos con calcio, vitamina D y vitamina K sobre la masa ósea. Dicho estudio es un ensayo clínico controlado, aleatorizado simple, con 3 ramas paralelas a estudio en función del tipo de producto consumido, enmascarado doble ciego y unicéntrico. La duración total del periodo del estudio fue de 18 meses.

En este estudio de investigación se pretendió medir la eficacia de un preparado lácteo enriquecido con distintas vitaminas y minerales sobre la masa ósea. Los sujetos a estudio fueron aleatorizados a una de las 3 ramas del mismo. En función de la rama asignada, el individuo consumió un tipo de leche. Los productos lácteos fueron consumidos durante 18 meses de forma diaria. La ingesta de producto era de 250 ml/día.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Analizar el efecto sobre la masa ósea de mujeres premenopáusicas que tiene la ingesta de distintos preparados lácteos enriquecidos con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, ingeridos diariamente durante 18 meses.

5.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Valorar las modificaciones que se producen en mujeres premenopáusicas al consumir un producto lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, durante dieciocho meses, sobre el componente hormonal regulador del metabolismo óseo.
- Valorar las modificaciones que se producen en mujeres premenopáusicas al consumir un producto lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, de forma diaria durante dieciocho meses, sobre los marcadores osteogénicos del metabolismo óseo.
- Valorar las modificaciones que se producen en mujeres premenopáusicas al consumir un producto lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, de forma diaria durante dieciocho meses, sobre los marcadores osteolíticos del metabolismo óseo.
- Determinar la seguridad de la administración diaria durante 18 meses de un preparado lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. FASE DE DESARROLLO

Ensayo clínico comparativo de tres leches enriquecidas con calcio y vitamina D, paralelo, aleatorizado, doble ciego y unicéntrico. La composición química de cada uno de los productos a estudio se presenta en las siguientes tablas.

PRODUCTO 1: CALACT-60

INGREDIENTES: Leche parcialmente desnatada, proteínas lácteas, sales de calcio, estabilizantes (E-450 y E-452) y vitamina D

Información nutricional	Valores medios por 100 mL		Por vaso (250 mL)	
	Valor energético	44 kcal (184 kJ)	110 kcal (460 kJ)	
	Proteínas	3,6 g	9 g	
	Hidratos de carbono	4,6 g	11,5 g	
	de los cuales azúcares	4,6 g	11,5 g	
	Grasas	1,3 g	3,25 g	
	de las cuales saturadas	0,9 g	2,25 g	
	Fibra	0 g	0 g	
	Sodio	0,07 g	0,175 g	
	Calcio	160 mg 20% CDR	400 mg	50% CDR
	Fósforo	130 mg 18% CDR	325 mg	45% CDR
	Vitamina D	1 ug 20% CDR	2,5 ug	50%CDR

PRODUCTO 2: CALNAT-48

INGREDIENTES: Leche parcialmente desnatada, proteínas lácteas, sales de calcio (de diferente fuente que el producto 1), estabilizantes (E-450 y E-452) y vitaminas D y K2.

Información nutricional	Valores medios por 100 mL		Por vaso (250 mL)	
	Valor energético	43 kcal (182 kJ)	107 kcal (455 kJ)	
	Proteínas	3,3 g	8,25 g	
	Hidratos de carbono	4,6 g	11,5 g	
	de los cuales azúcares	4,6 g	11,5 g	
	Grasas	1,3 g	3,25 g	
	de las cuales saturadas	0,9 g	2,25 g	
	Fibra	0 g	0 g	
	Sodio	0,10 g	0,25 g	
	Calcio	160 mg 20% CDR	400 mg	50% CDR
	Fósforo	105 mg 15% CDR	262,5 mg	37,5% CDR
	Vitamina D	1 ug 20% CDR	2,5 ug	50%CDR
	Vitamina K(*)	18 ug 24% CDR	45 ug	60%CDR

(*) Equivalencia en K2: 18 µg (40 % cantidad diaria orientativa de K2)

PRODUCTO 3: CALDOB-54

INGREDIENTES: Leche parcialmente desnatada, proteínas lácteas, sales de calcio, estabilizantes (E-450; E-452; E-460; E-466; E-407)

información nutricional	Valores medios por 100 mL			Por vaso (250 mL)	
	Valor energético	44 kcal (184 kJ)		110 kcal (460 kJ)	
	Proteínas	3,5 g		8,75 g	
	Hidratos de carbono	4,6 g		11,5 g	
	de los cuales azúcares	4,6 g		11,5 g	
	Grasas	1,3 g		3,25 g	
	de las cuales saturadas	0,9 g		2,25 g	
	Fibra	0 g		0 g	
	Sodio	0,10 g		0,25 g	
	Calcio	240 mg	30% CDR	600 mg	75% CDR
	Fósforo	105 mg	15% CDR	262,5 mg	37,5% CDR

6.2. MÉTODO DE ALEATORIZACIÓN

Una vez que el individuo firmó el documento de consentimiento informado del estudio y si cumplía todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión, se consideraron que era elegible para ser incluido en el estudio. Los sujetos elegibles fueron aleatorizados en una proporción de 1:1:1 a uno de los grupos. Los programas de aleatorización se generaron por ordenador, usando un generador de números pseudoaleatorio. Se asignaron a todos los sujetos números de identificación exclusivos.

6.3. TÉCNICAS DE ENMASCARAMIENTO

Este estudio se realizó con enmascaramiento doble. Tanto los sujetos a estudio como los investigadores implicados en la recolección de datos desconocerían el producto consumido. Para ello, los distintos productos llegaron al centro de realización del estudio en envase blanco en el que constaba un único código. Se guardaron en sobre cerrado el resultado de dicha codificación y solo se abrió tras la realización del análisis estadístico.



6.4. POBLACIÓN A ESTUDIO Y NÚMERO DE INDIVIDUOS

Se incluyeron 181 mujeres de edades comprendidas entre 30 y 45 años. Estos individuos se dividieron aleatoriamente en tres grupos, cada uno de los cuales consumió diariamente un tipo de leche durante 18 meses. El consumo diario de leche fue de 250 ml.

Cada sujeto fue informado de forma oral y por escrito de la metodología del estudio así como de los posibles efectos indeseables que podrían aparecer como consecuencia de las distintas determinaciones que se realizaron (extracciones sanguíneas, pruebas radiológicas, etc.). De la misma forma fueron informados de la voluntariedad del proyecto tanto en lo referido a su participación como en lo referido al abandono en cualquier momento del mismo. Así mismo, todos fueron conocedores de las características del producto que ingirieron durante 18 meses.

6.5. CRITERIOS DE SELECCIÓN

6.5.1. Criterios de inclusión

- Sexo femenino.
- Edad comprendida entre los 30 y 45 años.
- Premenopáusica.

6.5.2. Criterios de exclusión

- Problemas de fertilidad en la historia reproductiva relacionados con disfunción ovárica.
- Antecedentes de Neoplasias o síntomas como dolores óseos difusos o en lugares inhabituales como la calota y síndrome anémico, que pudieran orientar a la sospecha de Mielomas, Tumores Tiroideos, Paratiroides o Adenohipofisarios.
- Enfermedades Tiroideas que cursen con Hipo o Hipertiroidismo no tratado farmacológicamente.
- Enfermedades Endocrinológicas, como el Síndrome de Cushing o la Diabetes Mellitus.
- Enfermedades Renales y Enfermedades Hepáticas, que pueden alterar la maduración de la vitamina D
- Enfermedades Reumatológicas, como la Artritis Reumatoide o la Espondilitis Anquilosante.
- Enfermedades Digestivas, relacionadas con disminución de la absorción del calcio y/o la Vitamina D.
- Consumo de Fármacos (glucocorticoides, antiácidos, anticonvulsivantes, hormonas tiroideas, tetraciclinas, diuréticos...)
- Alimentación muy desequilibrada (sobre todo referida al consumo inadecuado de productos lácteos; dietas hiperproteicas; dietas hipocalóricas crónicas...).

6.5.3. Abandono y sustitución de pacientes

Los sujetos podían retirarse en cualquier momento, con o sin motivos, y sin perjuicio para ellos. Los individuos que abandonaron el estudio no se sometieron a ningún seguimiento adicional ni fueron sustituidos. En todos los casos de abandonos que se produjeron se registró el motivo. El investigador puede retirar a un sujeto del estudio si considera que este ya no puede cumplir con la totalidad de los requisitos del mismo o si alguno de los procedimientos se considera posiblemente nocivo para él. Los datos que ya se recogieron sobre los sujetos retirados se conservaron y usaron para el análisis, pero no se recogieron datos nuevos después de la retirada.

6.5.4. Criterios de retirada

Se interrumpió prematuramente el protocolo en los siguientes casos:

- Presencia de acontecimiento adverso.
- Otras violaciones del protocolo.
- Decisión facultativa.
- Renuncia del individuo a continuar en el estudio.
- Pérdida de seguimiento
-

6.6. VARIABLES DE EVALUACIÓN

6.6.1 VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS

- Edad.
- Consumo de tabaco. Nº de cigarrillos/día.
- Consumo de cafeína (café, bebidas con cafeína, etc.). Gramos/día.
- Fórmula menstrual. Nº de días que dura la menstruación/nº de días que dura el ciclo ovárico.

6.6.2. VARIABLES DENSITOMÉTRICAS

Densitometría de absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA)

Se utilizó un densitómetro radiológico Norland XR-46 de haz lineal (Pencil Beam) DXA (Absorciometría Fotónica Dual).

Utiliza como fuente de rayos X un tubo emisor de ánodo estacionario con refrigeración por aire, con potencial constante de 100 Kv, corriente de ánodo de 1,3 mA y sección de punto focal de 0,5 mm.

Su filtración mínima es equivalente a 2,7 mm de aluminio y presenta dos detectores de rayos X de centelleo de yoduro sódico (Na I) en modo de pulso continuo.

La calibración es automática con el estándar de calibración suministrado de 77 niveles y el fantoma de control de calidad QC (fantom quality control).

La exactitud es del 1% (basado en fantoma de hidroxipatita: programa de control de calidad que se realiza a diario para detectar cualquier tipo de fallo que altere la precisión del aparato) y la precisión DMO (evaluada como Coeficiente de Variación-CV-) para el antebrazo, por ejemplo, es de 0,8%.

La dosis de radiación que recibe el sujeto es inferior a 1,0 mrem (muy por debajo de los límites anuales permitidos). Es preferible que la zona a explorar esté desnuda (aunque es posible usar ropa fina que no lleve accesorios metálicos o minerales) y, obviamente, el sujeto no puede moverse durante el tiempo que dure la prueba.

La Temperatura de Operación oscila entre 15º y 32º C y la Humedad Relativa puede llegar hasta un 80% no condensante.

Los parámetros serán medidos en columna lumbar (L2-L4), cuello de fémur, región trocantérea, y cadera total.

Los parámetros medidos en esta prueba para cada una de las regiones serán:

- Peso (kg).
- Área de estudio (cm²).
- Longitud (cm).
- Contenido Mineral Óseo (BMC) (g): cantidad de hueso mineralizado expresado en gramos.
- Densidad Mineral Ósea (BMD) (g/cm³): cantidad de hueso mineralizado por unidad de volumen; se corresponde realmente con BMA o Bone Mineral Area Mass (cantidad de hueso mineralizado o masa mineral ósea por unidad de área o superficie).

Los valores obtenidos suelen expresarse en forma de Media +/- 2DE (desviaciones estándar).

La Densitometría Ósea, además de medir la densidad mineral ósea (DMO o BMD) de un determinado individuo en términos absolutos y relativos, permite la comparación de ésta con valores de referencia poblacionales mediante las Escalas o Puntuaciones T y Z:

- Escala T (T-Score): la comparación se establece entre la DMO individual y la DMO de adultos jóvenes (20-35 años) y sanos del mismo sexo (se supone que aquí se encuentra el pico de masa ósea o masa ósea máxima). Se expresa en forma de porcentaje y número de desviaciones estándar en que este valor se separa de la media de la DMO de los valores de referencia. Se obtiene a partir de la DMO del paciente menos el valor medio de la DMO en los adultos jóvenes dividido por la desviación estándar de la DMO de los adultos jóvenes del mismo sexo.
- Escala Z (Z-Score): la comparación se establece entre la DMO individual y la DMO de individuos de la misma edad y sexo. Esta puntuación se expresa también en forma de porcentaje y número de desviaciones estándar en que este valor se separa de la media de la DMO de los valores de referencia.

Puntuación Z = $\frac{\text{DMO sujeto} - \text{DMO media para su edad y sexo}}{\text{Desviación estándar de su grupo de edad y sexo}}$

6.6.3. VARIABLES SANGUÍNEAS Y URINARIAS

Estos exámenes analíticos descartaron posibles patologías metabólicas y estudiaron marcadores de remodelado o actividad ósea, tanto osteogénicos como osteolíticos, así como ciertas variables bioquímicas relacionadas con el metabolismo óseo.

6.6.3.1. Variables sanguíneas

La extracción de sangre venosa se realizó a partir de una de las venas del antebrazo próximas a la flexura del codo, guardando todas las medidas de asepsia obligatorias. En cada extracción se tomó un volumen de 10 mililitros de sangre que se repartió en distintos tubos especiales:

- 3 mililitros en un tubo Aquisel® K3E/EDTA 3K.
- 3,5 mililitros en cada uno de los dos tubos Aquisel® Z/SERUM CLOTTING ACTIVATOR SEPARATOR GEL.

6.6.3.1.2. Variables serológicas de sangre venosa

- Bioquímica Sérica: Creatinina (mg/dl) mediante Método Cinético, Ácido Úrico (mg/dl) mediante Método Enzimático, Calcemia, Fósforo y Magnesio (mg/dl) mediante Método Espectrofotométrico, Fosfatasa Alcalina Ósea (mcg/l) mediante Método Inmunoanálisis y Fosfatasa ácido Tartrato resistente (UI/l) mediante Método Cinético.
- Endocrinología y Nutrición: Osteocalcina (ng/ml) mediante método R.I.A, Vitamina D (1,25 dihidroxicolecalciferol) en (pg/ml) mediante Método R.I.A y Parathormona Intacta en (pg/ml) mediante Método Quimioluminiscencia.

6.6.3.2. Variables urinarias

La muestra de orina se recogió en frascos estériles roscados Eurotubo® de 150 ml de capacidad, graduados a 100 ml.

Las variables medidas son:

- Telopéptido amino terminal tipo 1 (nmol/ mmol crea) determinada mediante método E.I.A
- Desoxipiridinolina (nmol/ mmol crea) mediante Método E.I.A

6.6.4. CUESTIONARIO PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y OPINIÓN DEL CONSUMIDOR

El cuestionario de propiedades organolépticas y opinión de consumidor se realizó en la última visita (Mes 18).

El cuestionario constaba de seis preguntas, las cinco primeras fueron sobre cuestiones organolépticas del producto, y la última su opinión personal sobre si comprarían o no el producto.

Los sujetos evaluaron cada una de las preguntas en un intervalo de puntuación de 1 a 4, siendo el valor 1 “No me gusta” o “No lo compraría” y el valor 4 “Me gusta mucho” o “Lo compraría”.

ENCUESTA

Por favor, complete la siguiente encuesta relacionada con el producto que ha estado probando durante 18 meses. Muchas gracias por su colaboración.

PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y OPINIÓN DEL CONSUMIDOR

Por favor, valore del 1 al 4 las siguientes características del producto que ha probado, siendo el valor 1 “No me gusta” o “No lo compraría” y el valor 4 “Me gusta mucho” o “Lo compraría”.

1. Textura del producto..... ____

2. Olor del producto..... ____

3. Agradabilidad del producto..... ____

6.7. SEGUIMIENTO DE LOS SUJETOS

Los sujetos fueron reclutados repartiendo dípticos en centros de la mujer de la región de Murcia además de en los Hospitales de Molina de Segura y San Javier.

En el reclutamiento inicial se les registró nombre y apellidos y teléfono de contacto, posteriormente se telefoneó a cada una de ellas explicándoles brevemente el estudio y exponiéndoles los criterios de inclusión y exclusión (Selección- vía telefónica).

En la Visita 1 se recordó al sujeto la información del estudio y se repasaron de nuevo los criterios de inclusión y exclusión, además de firmar el consentimiento informado previamente informado el sujeto sobre los beneficios y riesgos potenciales derivados de la participación en el estudio. El sujeto pudo hacer preguntas y resolver dudas acerca del estudio o el tratamiento con el investigador.

-Selección (vía telefónica)

- Explicación de procedimientos al sujeto a estudio.
- Cumplimiento de criterios de inclusión y exclusión.

-Visita 1 (Inicial)

- Explicación de procedimientos al sujeto a estudio.
- Cumplimiento de criterios de inclusión y exclusión.
- Entrega y recogida firmado del consentimiento informado.
- Recogida datos sociodemográficos
- Densitometría de absorciometría de rayos X de energía dual.
- Extracción sanguínea.
- Entrega de material para recogida de orina y recogida de muestras de orina.
- Recogida de datos de los cuestionarios
- Entrega de leche.

-Visita 2 (Mes 9)

- Recogida datos sociodemográficos
- Densitometría de absorciometría de rayos X de energía dual.
- Extracción sanguínea.
- Entrega de material para recogida de orina y recogida de muestras de orina.
- Recogida de datos de los cuestionarios
- Entrega de leche.

-Visita 3 (Mes 18)

- Recogida datos sociodemográficos
- Densitometría de absorciometría de rayos X de energía dual.
- Extracción sanguínea.
- Entrega de material para recogida de orina y recogida de muestras de orina.
- Recogida de datos de los cuestionario
- Entrega de leche.

Duración estudio	Selección (Vía telefónica)	Visita 1 (Inicial)	Visita 2 (Mes 9)	Visita 3 (Mes 18)
Información al paciente	X	X		
Criterios inclusión /exclusión	X	X		
Consentimiento informado		X		
Recogida datos sociodemográficos		X	X	X
Densitometría		X	X	X
Cuestionario IPAQ corto		X	X	X
Cuestionario propiedades organolépticas				X
Extracción sanguínea		X	X	X
Recogida muestra orina		X	X	X
Recogida producto		X	X	X

La recogida de producto comienza en la visita 1 y finaliza en la visita 3, entre visitas los sujetos recogieron producto a demanda, teniendo en cuenta que debían consumir 1 vaso de leche al día (250ml); además se realizó un seguimiento de la ingesta de producto vía telefónica durante todo el periodo de duración del estudio.

6.8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

6.8.1. HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO.

En el cumplimiento de lo establecido en la declaración de Helsinki, es responsabilidad del investigador informar al paciente sobre su participación en un estudio clínico, debiendo aclarar en tal caso, que esta participación es voluntaria. El investigador obtuvo por escrito, el consentimiento informado y voluntario del paciente. En el modelo de consentimiento se debió constar la fecha y firmas del investigador y del sujeto a estudio.

6.9. CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS

Siempre se mantuvieron los niveles más altos de conducta profesional y confidencialidad y se cumplieron la legislación nacional vigente sobre protección de datos (Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/1999, de 13 de Diciembre). El derecho de los pacientes a la confidencialidad debe ser respetado. La identidad de los pacientes se codificó en los documentos del estudio y sólo personal debidamente autorizado tuvo acceso a los datos personales identificables cuando los procedimientos de verificación de datos exigieron la inspección de esa información.

Asimismo, fue responsabilidad del investigador informar al sujeto a estudio de modo expreso, preciso e inequívoco que sus datos se incorporarán a una base de datos informática, la cual sólo se empleará con finalidades de investigación y que el paciente no podrá ser identificado de ninguna forma en dicha base de datos, y de la identidad y dirección del responsable del tratamiento de dicha base de datos.

Todos los datos consignados en los cuadernos de recogida de datos fueron tratados de forma confidencial. En ninguno de los registros efectuados constó el nombre de los pacientes, sino que éstos serán identificados a través de un número correspondiente al código del paciente. En la base de datos informática el paciente fue identificado por un número de código interno.

Los datos se incorporaron a una base de datos propiedad de Universidad Católica San Antonio de Murcia, los cuales serán cancelados cuando dejen de ser necesarios y no serán usados para finalidades incompatibles con aquellas para las que los datos hubieran sido recogidos.

6.10. EVALUACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN

El estudio cumplió los requerimientos expresados en la Declaración de Helsinki (revisión de Edimburgo, octubre 2000) y siguió las recomendaciones de la Buena Práctica Clínica de la CEE (documento 111/3976/88, Julio de 1990) y la normativa española vigente (Real decreto 561/1993, 16 Abril publicado en el BOE 13 de Mayo de 1993) por el que se establecen los requisitos para la realización de ensayos clínicos. El protocolo se sometió a la evaluación del Comité de Ética de la Universidad Católica San Antonio de Murcia y fue aprobado por el mismo.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

7.1. MANEJO DE DATOS

Se nombró un técnico de apoyo a la investigación cuya principal función fue asegurarse de que el estudio se realizara conforme a lo exigido en el protocolo. Revisó los cuadernos de recogida de datos (CRD) individualmente y comprobó que todos los datos se hayan recogido correctamente.

Los datos de todos los CRD fueron introducidos en una base de datos creada a tal fin y dotada de márgenes de seguridad y normas de coherencia interna, tras lo cual se repasaron los casos que presenten valores anómalos o incoherentes.

7.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Los datos demográficos y otras características basales de los sujetos del ensayo se han descrito mediante índices estadísticos descriptivos, para el global de los pacientes y para cada uno de los grupos de pacientes en estudio.

Las variables continuas se han descrito utilizando medidas de tendencia central (media) y medidas de dispersión (desviación estándar). Mientras que las variables categóricas se han descrito a través de tablas de frecuencia absoluta y relativa.

Se compararon las características basales mostradas por los tres grupos de participantes en estudio. Las pruebas estadísticas se realizaron dependiendo de la naturaleza de las variables. La comparación de variables categóricas se realizó mediante el test de Chi-Square y la comparación de variables continuas mediante el test t-Student.

7.3. ANÁLISIS DE LA VARIABLE PRINCIPAL

El criterio primario de eficacia es la comparación del cambio respecto a la evaluación basal en la masa ósea medida mediante DEXA entre los grupos con los productos en experimentación.

Los cambios respecto a la evaluación basal en la masa ósea (DEXA) se compararon entre los grupos mediante un modelo de análisis de varianza para medidas repetidas: un factor intrasujeto (tiempo: inicial, mes 9 y mes 18) y otro factor intersujeto (producto ingerido: calnat48, caldob54 o calact60). Para el análisis post-hoc se realizará test de Tukey o de Bonferroni.

El nivel de significación aceptado en este caso es de $p < 0,05$.

7.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS

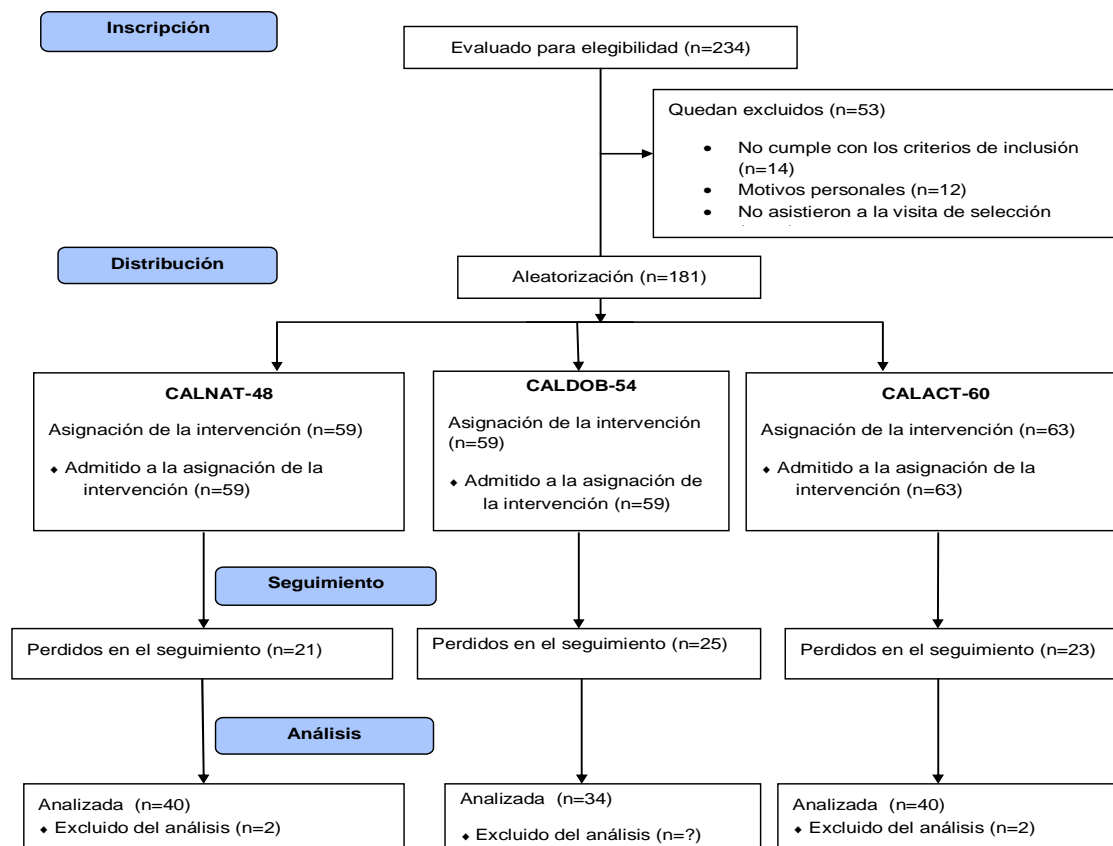
En este estudio intentamos averiguar cuáles son las modificaciones que en distintos parámetros densitométricos, séricos, etc., tienen lugar al consumir un preparado lácteo enriquecido con calcio de distintas procedencias y en distintas concentraciones, vitamina D y vitamina K durante 18 meses. Para establecer las diferencias entre los distintos preparados lácteos, realizaremos un análisis de varianza para medidas repetidas con un factor intrasujeto (tiempo: inicial, mes 9 y mes 18) y otro factor intersujeto (producto ingerido: calnat48, caldob54 o calact60). De esta manera establecimos diferencias en cada una de las variables analizadas atendiendo a estos factores. Para el análisis post-hoc se realizó test de Tukey o de Bonferroni.

El nivel de significación aceptado en este caso es de $p < 0,05$.

Igualmente, se procedió a realizar un estudio de correlación lineal, mediante el test de Correlación Lineal de Pearson, entre todas las variables, radiológicas y bioquímicas que demuestren cambios significativos o tendencia a la modificación significativa en el ANOVA. La correlación será analizada en el momento inicial del estudio y también se analizará la correlación entre los incrementos o decrementos observados en cada una de estas variables a lo largo de nuestro trabajo (diferencia entre el momento inicial y el momento final).

8. RESULTADOS

8.1. DIAGRAMA DE FLUJO



Inicialmente se reclutaron 234 mujeres a las que se les registró nombre y apellidos y teléfono de contacto, posteriormente se telefoneó a cada una de ellas explicándoles brevemente el estudio y exponiéndoles los criterios de inclusión y exclusión.

De las 234 mujeres, 14 no cumplían los criterios de inclusión y 12 se negaron por otros motivos (falta de tiempo, temor a la prueba densitométrica, vivir lejos del lugar de realización de las pruebas etc.) y 27 no acudieron al primer día de estudio. Por tanto, iniciaron el estudio 181 sujetos que fueron aleatorizados en los tres grupos a estudio:

Grupo “calnat48” compuesto de 59 sujetos, grupo “caldob54” compuesto de 59 sujetos y grupo “calact60” compuesto de 63 sujetos.

Del grupo “calnat48” se perdieron 19 sujetos, 3 por presentar acontecimientos adversos (2 de ellas por estar embarazadas y 1 por presentar un proceso de litiasis renal), 5 abandonaron el estudio por decisión propia y 11 dejaron de recoger producto.

Del grupo “caldob54” se perdieron 25 sujetos, 7 de ellas abandonaron el estudio por problemas de coagulación en el tipo de producto, 6 abandonaron sin justificar, 5 dejaron de recoger producto y 7 presentaron acontecimientos adversos (4 de ellas les sentaba mal el producto, 1 le diagnosticaron intolerancia a la lactosa, 1 le diagnosticaron colon irritable, y 1 le realizaron una ovariectomía).

Del grupo “calact60” se perdieron 23 sujetos, 15 abandonaron el estudio no recogiendo más producto, 1 comenzó un tratamiento hormonal y 4 presentaron acontecimientos adversos (embarazos).

Por tanto, concluyeron el estudio 114 sujetos: 40 del grupo “calnat48”, 34 del grupo “caldob54”, y 40 del grupo “calact60”.

De la visita 1 (Inicial) a la visita 2 (mes 9) se produjo una pérdida de sujetos del 24.3%.

Y de la visita 2 (mes 9) a la visita 3 (mes 18) se perdieron el 16.8% de los sujetos.

Los sujetos perdidos desde que comenzó el estudio hasta el final fue del 37%.

El análisis por protocolo se ha realizado con estos 114 sujetos.

8.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES EVALUADAS

Se ha realizado un análisis descriptivo de todas las variables en estudio. A las variables cuantitativas se les ha calculado la media y la desviación típica y a las variables cualitativas se les realizó tabla de frecuencias.

Las variables se han dividido en dos grupos: variables analizadas durante la visita inicial (características socio-demográficas de la muestra) y las variables de eficacia y seguridad del ensayo (análisis descriptivo de las variables de eficacia y seguridad).

8.2.1. Características socio-demográficas de la muestra

La edad de la población que participó en el estudio fue de $39,2 \pm 4,6$ años. Si segmentamos la población en los tres grupo del estudio, la edad de cada uno de ellos fue $38,9 \pm 5,0$ años para el grupo calnat 48, $40,0 \pm 4,8$ años para el grupo caldo B 54 y $38,7 \pm 4,9$ años para el grupo calact 60.

El peso de la población que participó en el estudio fue de $68,7 \pm 15,0$ Kg. Si segmentamos la población en los tres grupo del estudio, el peso de cada uno de ellos fue $69,8 \pm 15,0$ Kg para el grupo calnat 48, $72,2 \pm 13,3$ Kg para el grupo caldo B 54 y $64,4 \pm 13,0$ Kg para el grupo calact 60.

Si analizamos la homogeneidad en el estado inicial de los grupos atendiendo a las variables edad y peso observamos que los grupos son homogéneos.

En cuanto al hábito tabáquico y el consumo de cafeína tampoco se observan diferencias al comparar los tres grupos por tanto, los grupos también son homogéneos para estas variables en el instante inicial.

La media de duración de la menstruación son $4,3 \pm 1,6$ días y la media de duración del ciclo menstrual fue de $28,1 \pm 6,5$ días.

En las siguientes tablas y figuras se analizan los estadísticos descriptivos de todas las variables recogidas durante la visita inicial. Algunas de estas variables debían ser consideradas en los criterios de selección y otras se analizan para caracterizar a la muestra.

Tipo producto

		Frecuencia	Porcentaje
Producto	Calnat 48	38	11,4
	Caldo B 54	34	10,2
	Calact 60	38	11,4
	Total	110	33,1

Tabla 1. Distribución de los sujetos en función del producto que han consumido.

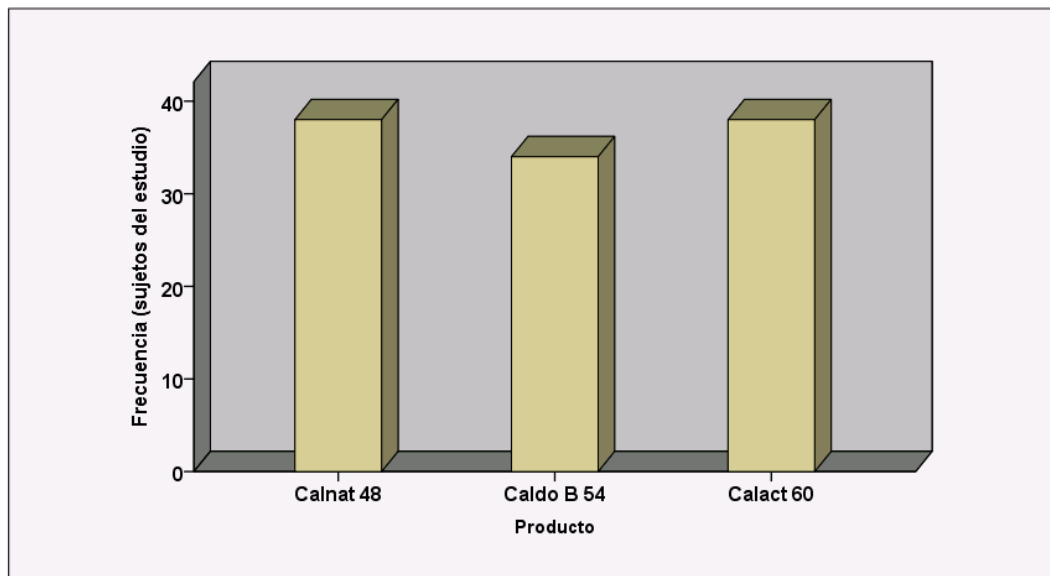


Figura 1. Distribución de los sujetos en función del tipo producto que han consumido.

Edad

Producto	Media	Desv. típ.	N
Calnat 48	38,921	4,2957	38
Caldo B 54	40,029	4,7894	34
Calact 60	38,737	4,8696	38
Total	39,200	4,6448	110

Tabla 2. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la edad (años) que presentaban los sujetos al inicio del estudio.

Peso

	Producto	Media	Desviación típica	N
Peso (Kg)	Calnat 48	69,837	15,0219	38
	Caldo B 54	72,226	13,3451	34
	Calact 60	64,371	13,0122	38
	Total	68,687	14,1016	110

Tabla 3. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del peso (Kg) que presentaban los sujetos al inicio del estudio.

Índice de masa corporal (IMC)

	Producto	Media	Desviación típica	N
IMC(Kg/m ²)	Calnat 48	25,880	5,1579	38
	Caldo B 54	27,405	5,2799	34
	Calact 60	24,232	4,4078	38
	Total	25,782	5,0724	110

Tabla 4. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del IMC (Kg/m²) que presentaban los sujetos al inicio del estudio.

Hábito tabáquico

		Frecuencia	Porcentaje
Fumadores	Nunca	54	49,1
	Ex fumador	15	13,6
	Fumador actual	41	37,3
	Total	110	100,0

Tabla 5. Distribución de los sujetos en función del hábito tabáquico

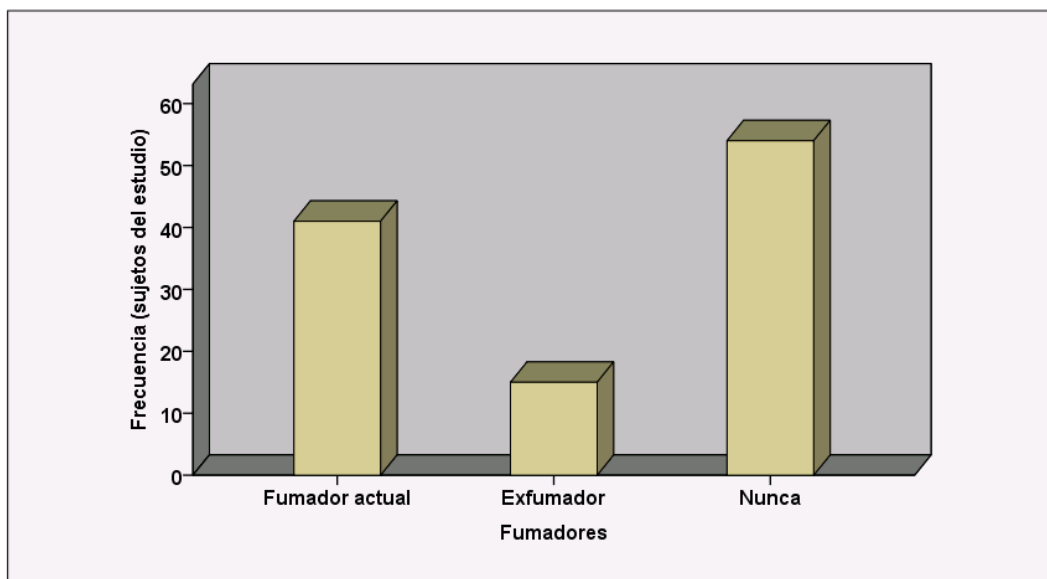


Figura 2. Distribución de los sujetos en función del hábito tabáquico.

Consumo de cafeína y Fórmula menstrual

		Frecuencia	Porcentaje	
Sujetos	Sí	70	63,6	
	No	40	36,4	
	Total	110	100,0	
		N	Media	Desv. típ.
Nº días menstruación		110	4,3	1,6
Nº días ciclo menstrual		110	28,1	6,5
Fórmula menstrual		110	,1932	,14552

Tabla 6. Distribución de los sujetos en función del consumo de cafeína y fórmula menstrual

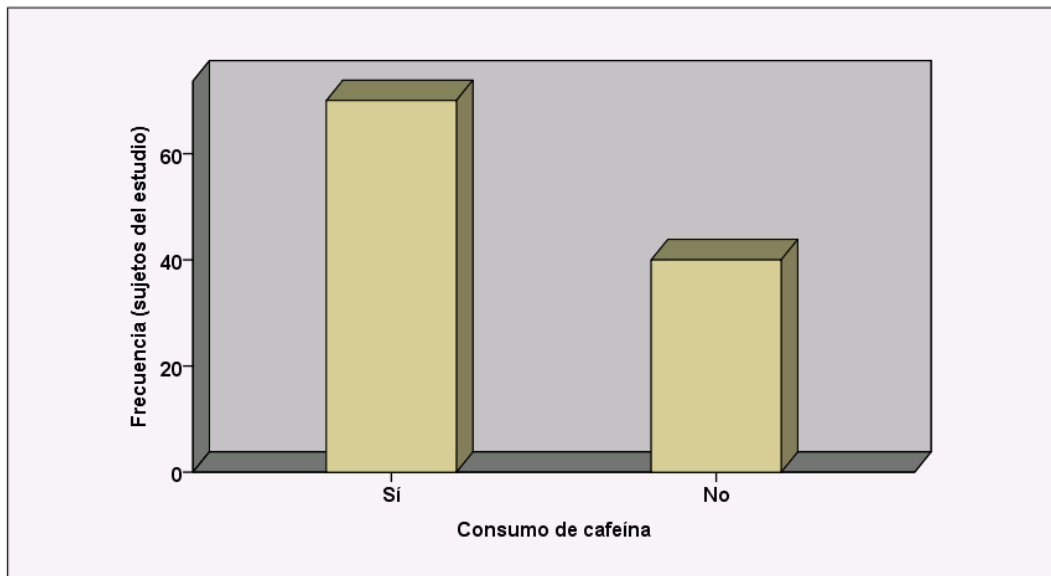


Figura 3. Distribución de los sujetos en función del consumo de cafeína.

8.3. ANÁLISIS DE EFICACIA

En las siguientes tablas se analizan los estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de todas las variables de eficacia y seguridad analizadas durante la realización del ensayo.

Todas las variables se analizaron en los tiempos Inicial, mes 9 y mes 18 y para cada uno de los grupos a estudio (calnat 48, caldob 54 y calact 60).

Para el estudio comparativo de la eficacia de los productos en estudio se ha realizado ANOVA para medidas repetidas con dos factores a estudio (tipo de producto y tiempo).

8.3.1. Índice de masa corporal (IMC)

La evolución de esta variable no se modifica en ninguno de los grupos a lo largo de los 18 meses que dura el estudio, es decir, el IMC no varía tras 18 meses de consumo de cada tipo de leche.

Entre los sujetos que pertenecen al grupo “calnat 48”, “caldob54” Y “calact60” no existen diferencias estadísticamente significativas en la evolución del IMC.

	Producto	Media	Desviación típica	N
IMC Inicial	Calnat 48	25,880	5,1579	38
	Caldo B 54	27,405	5,2799	34
	Calact 60	24,232	4,4078	38
	Total	25,782	5,0724	110
IMC Mes 9	Calnat 48	26,017	4,8999	38
	Caldo B 54	27,437	5,2166	34
	Calact 60	24,281	4,4220	38
	Total	25,856	4,9678	110
IMC Mes 18	Calnat 48	25,776	4,9894	38
	Caldo B 54	27,570	5,7291	34
	Calact 60	24,581	4,3266	38
	Total	25,918	5,1209	110

Tabla 7. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Índice de masa corporal (Kg/m²) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

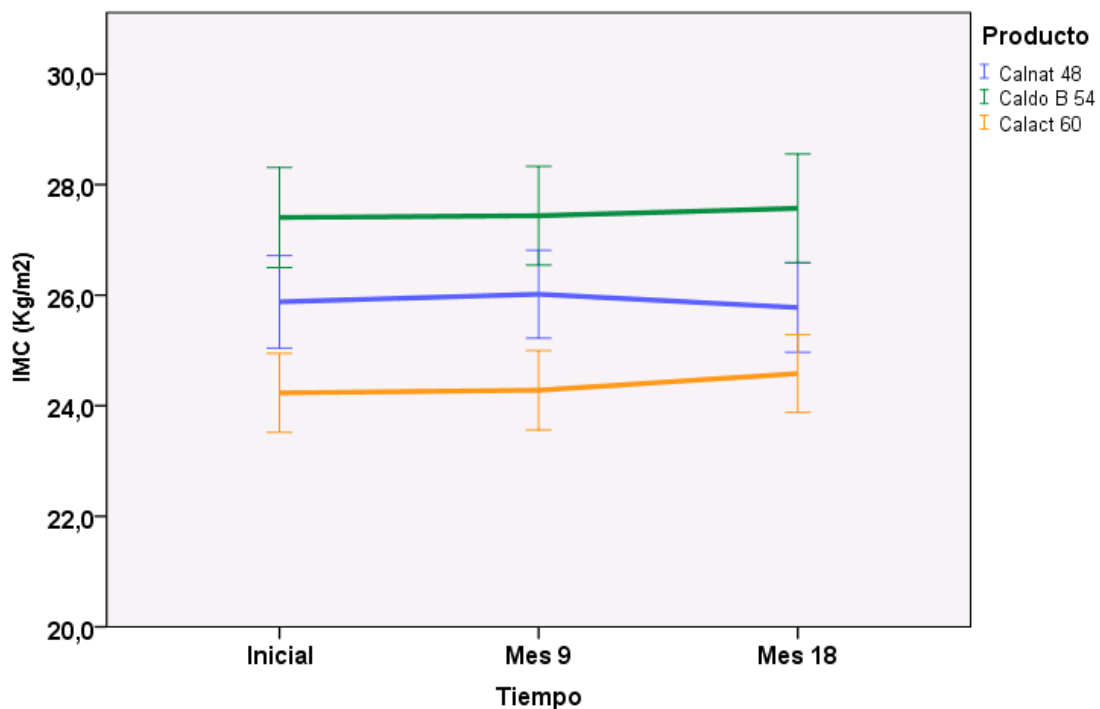


Figura 4. Índice de masa corporal (Kg/m^2) de cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error ± 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.2. Contenido mineral óseo (BMC)

8.3.2.1. Columna lumbar

La evolución de esta variable no se modifica en ninguno de los grupos a lo largo de los 18 meses que dura el estudio, es decir, el BMC de la columna lumbar no varía tras 18 meses de consumo de cada tipo de leche.

Entre los sujetos que pertenecen al grupo “calnat 48”, “caldob54” Y “calact60” no existen diferencias estadísticamente significativas en la evolución de esta variable.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMC - Columna Lumbar Inicial	Calnat 48	48,346	7,3670	38
	Caldo B 54	46,070	7,2189	34
	Calact 60	44,080	7,9343	38
	Total	46,169	7,6646	110
BMC - Columna Lumbar Mes 9	Calnat 48	47,879	5,9575	38
	Caldo B 54	47,205	9,8805	34
	Calact 60	44,646	7,5340	38
	Total	46,554	7,9300	110
BMC - Columna Lumbar Mes 18	Calnat 48	47,766	6,8257	38
	Caldo B 54	46,744	8,8405	34
	Calact 60	44,610	7,7914	38
	Total	46,360	7,8667	110

Tabla 8. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable contenido mineral óseo (g) en la columna lumbar en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

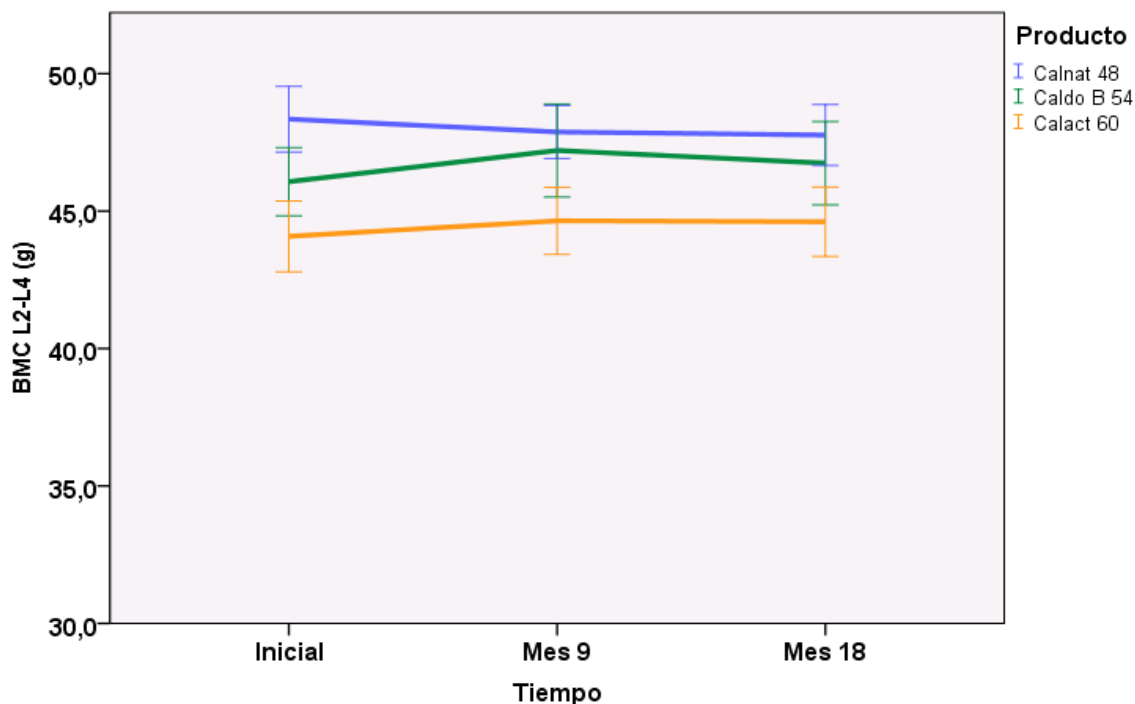


Figura 5. Contenido mineral óseo (g) de la columna lumbar para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.2.2. Cuello fémur

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en el BMC del cuello del fémur en el grupo “calact60” de 0,303 g (6,7%) de forma significativa ($p < 0,031$), mientras que el grupo “calnat48” disminuye 0,051 g (1,1%) y el grupo “caldob54” disminuye 0,06 g (1,4%), ambas de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas. ($p = 0,091$).

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMC - Cuello Fémur Inicial	Calnat 48	4,592	,7987	38
	Caldo B 54	4,329	,7815	34
	Calact 60	4,536	1,2021	38
	Total	4,491	,9510	110
BMC - Cuello Fémur Mes 9	Calnat 48	4,601	,8255	38
	Caldo B 54	4,425	,7405	34
	Calact 60	4,262	,7525	38
	Total	4,430	,7808	110
BMC - Cuello Fémur Mes 18	Calnat 48	4,541	,8612	38
	Caldo B 54	4,269	,9762	34
	Calact 60	4,233	,7885	38
	Total	4,350	,8780	110

Tabla 9. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable contenido mineral óseo (g) en el cuello del fémur en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

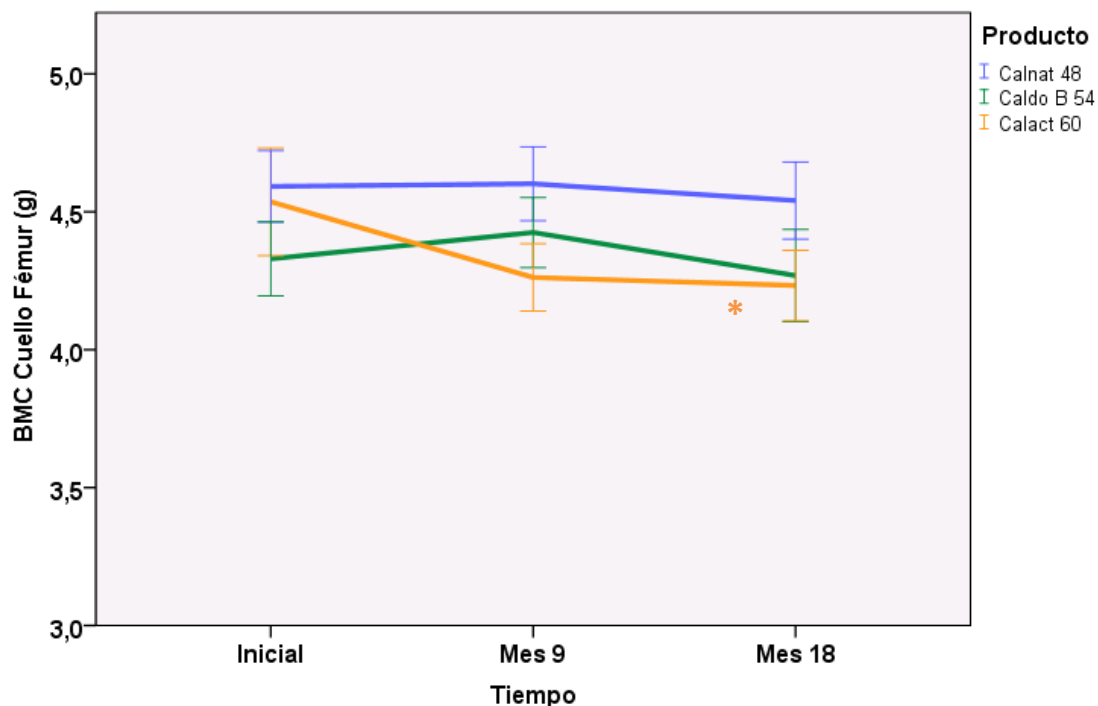


Figura 6. Contenido mineral óseo (g) del cuello del fémur para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

* $p < 0,05$ comparado con el estado inicial. ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.2.3. Región trocantérea

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en el BMC de la región trocantérea en el grupo “calnat48” de 0,03 g (0,3%), y del grupo “caldob54” en un 0,045 g (0,6%) y se observa un aumento en el grupo “calact60” de un 0,028 g (0,3%), aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas en BMC de la región trocantérea.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMC - Región Trocantérea Inicial	Calnat 48	8,606	1,7611	38
	Caldo B 54	8,167	1,5871	34
	Calact 60	8,132	2,2655	38
	Total	8,307	1,8988	110
BMC - Región Trocantérea Mes 9	Calnat 48	8,527	1,7936	38
	Caldo B 54	8,213	1,6881	34
	Calact 60	8,145	2,2665	38
	Total	8,298	1,9306	110
BMC - Región Trocantérea Mes 18	Calnat 48	8,576	1,6709	38
	Caldo B 54	8,122	1,4318	34
	Calact 60	8,160	2,2464	38
	Total	8,292	1,8233	110

Tabla 10. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable contenido mineral óseo (g) en la región trocantérea en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

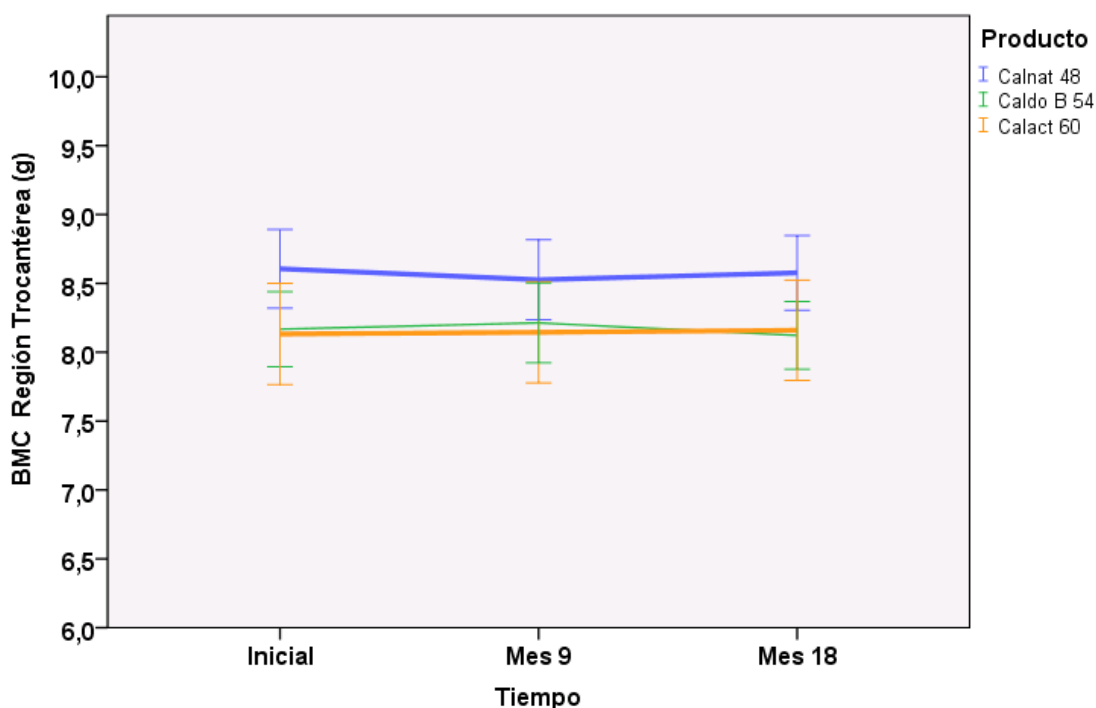


Figura 7. Contenido mineral óseo (g) de la región trocánterea para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.2.4. Cadera total

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en los valores del BMC de la cadera total en el grupo “calnat48” de 0,434 g (1,3%), el grupo “caldob54” disminuye 0,031 g (0,1%) y el grupo “calact60” disminuye 0,065 g (0,2%), aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMC - Cadera Total Inicial	Calnat 48	32,449	4,8562	38
	Caldo B 54	31,052	3,5535	34
	Calact 60	30,344	5,4575	38
	Total	31,290	4,7683	110
BMC - Cadera Total Mes 9	Calnat 48	32,188	4,9006	38
	Caldo B 54	31,192	3,3374	34
	Calact 60	30,246	5,2102	38
	Total	31,209	4,6256	110
BMC - Cadera Total Mes 18	Calnat 48	32,015	4,6948	38
	Caldo B 54	31,021	3,7900	34
	Calact 60	30,279	5,2215	38
	Total	31,108	4,6491	110

Tabla 11. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable contenido mineral óseo (g) en la cadera total en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

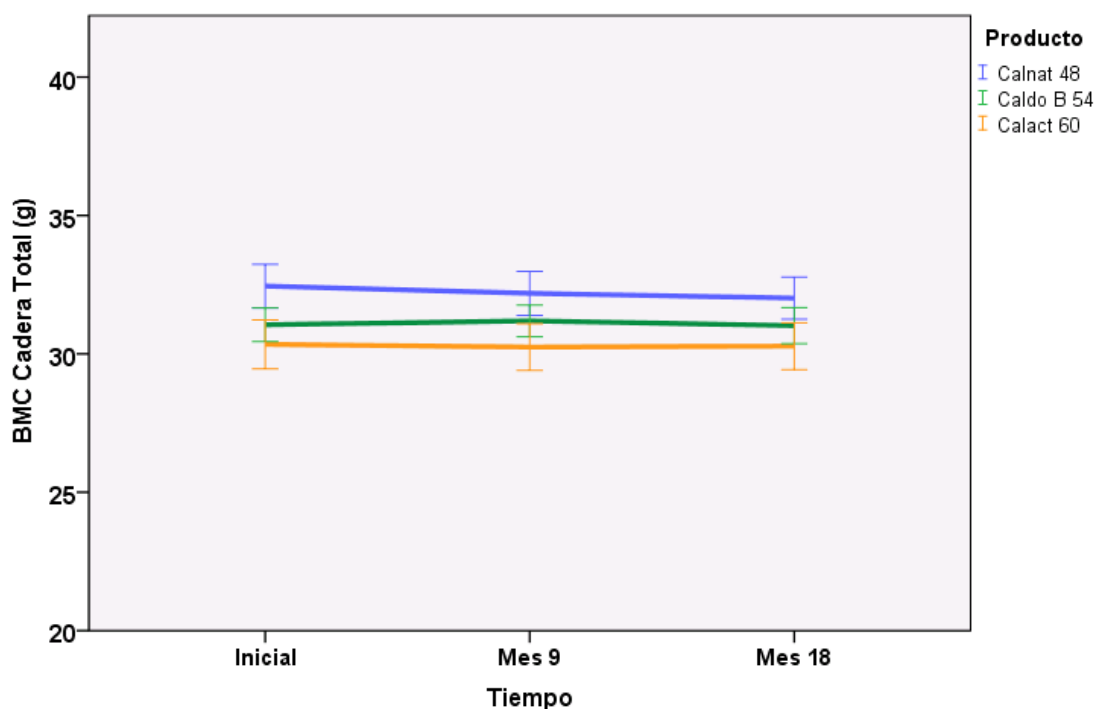


Figura 8. Contenido mineral óseo (g) de la cadera total para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.3. Densidad mineral ósea (BMD)

8.3.3.1. Columna lumbar

La evolución de esta variable no se modifica en ninguno de los grupos a lo largo de los 18 meses que dura el estudio, es decir, el BMD de la columna lumbar no varía tras 18 meses de consumo de cada tipo de leche.

Entre los sujetos que pertenecen al grupo “calnat 48”, “caldob54” Y “calact60” no existen diferencias estadísticamente significativas en la evolución de esta variable.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMD - Columna Lumbar Inical	Calnat 48	1,075	,1509	38
	Caldo B 54	1,078	,1359	34
	Calact 60	1,039	,1498	38
	Total	1,064	,1458	110
BMD - Columna Lumbar Mes 9	Calnat 48	1,088	,1367	38
	Caldo B 54	1,083	,1515	34
	Calact 60	1,041	,1548	38
	Total	1,070	,1479	110
BMD - Columna Lumbar Mes 18	Calnat 48	1,077	,1350	38
	Caldo B 54	1,081	,1497	34
	Calact 60	1,042	,1564	38
	Total	1,066	,1469	110

Tabla 12. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable densidad mineral ósea (g/cm^2) en la cadera total en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

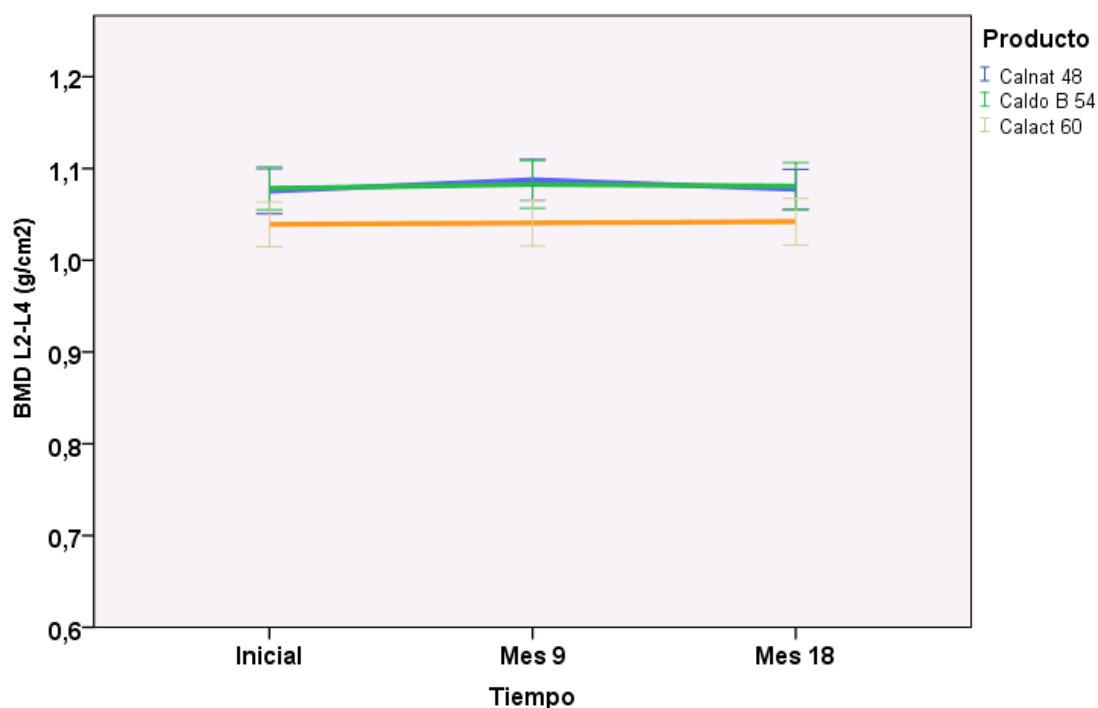


Figura 9. Densidad mineral ósea (g/cm^2) de la columna lumbar para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error ± 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.3.2. Cuello fémur

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución del BMD del cuello del fémur en el grupo “calnat48” de $0,011 \text{ g}/\text{cm}^2$ (1,1%), el grupo “caldob54” disminuye $0,009 \text{ g}/\text{cm}^2$ (1%) y el grupo “calact60” disminuye $0,004 \text{ g}/\text{cm}^2$ (0,5%), aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMD - Cuello Fémur Inicial	Calnat 48	,960	,1333	38
	Caldo B 54	,909	,1088	34
	Calact 60	,889	,1278	38
	Total	,920	,1268	110
BMD - Cuello Fémur Mes 9	Calnat 48	,955	,1318	38
	Caldo B 54	,910	,1097	34
	Calact 60	,879	,1340	38
	Total	,915	,1290	110
BMD - Cuello Fémur Mes 18	Calnat 48	,949	,1281	38
	Caldo B 54	,900	,1121	34
	Calact 60	,885	,1362	38
	Total	,912	,1283	110

Tabla 13. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable densidad mineral ósea (g/cm^2) del cuello del fémur en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

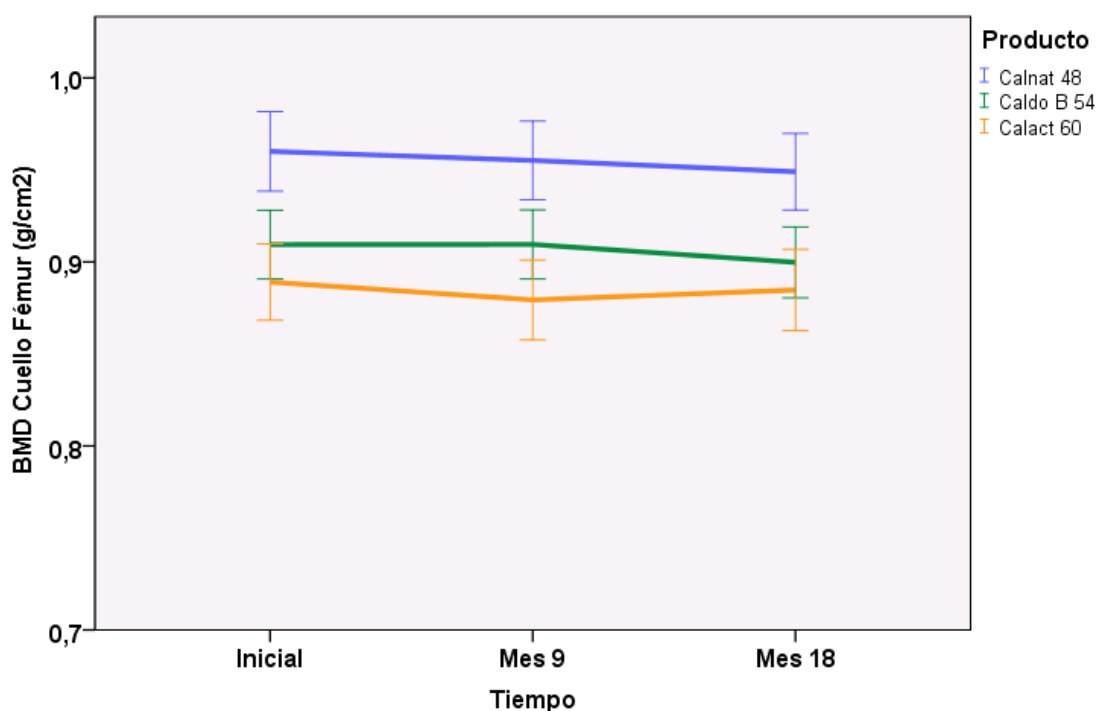


Figura 10. Densidad mineral ósea (g/cm^2) del cuello del fémur para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error ± 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.3.3. Región trocantérea

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en la BMD de la región trocantérea en el grupo “calnat48” de $0,011 \text{ g}/\text{cm}^2$ (1,5%), el grupo “caldob54” disminuye $0,001 \text{ g}/\text{cm}^2$ (0,1%) y el grupo “calact60” disminuye $0,004 \text{ g}/\text{cm}^2$ (0,6%), aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMD - Región Trocantérea Inicial	Calnat 48	,746	,1119	38
	Caldo B 54	,693	,1131	34
	Calact 60	,695	,1113	38
	Total	,712	,1138	110
BMD - Región Trocantérea Mes 9	Calnat 48	,735	,1051	38
	Caldo B 54	,705	,0927	34
	Calact 60	,697	,1100	38
	Total	,713	,1036	110
BMD - Región Trocantérea Mes 18	Calnat 48	,735	,1001	38
	Caldo B 54	,692	,0919	34
	Calact 60	,691	,1083	38
	Total	,706	,1018	110

Tabla 14. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable densidad mineral ósea (g/cm^2) de la región trocantérea en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

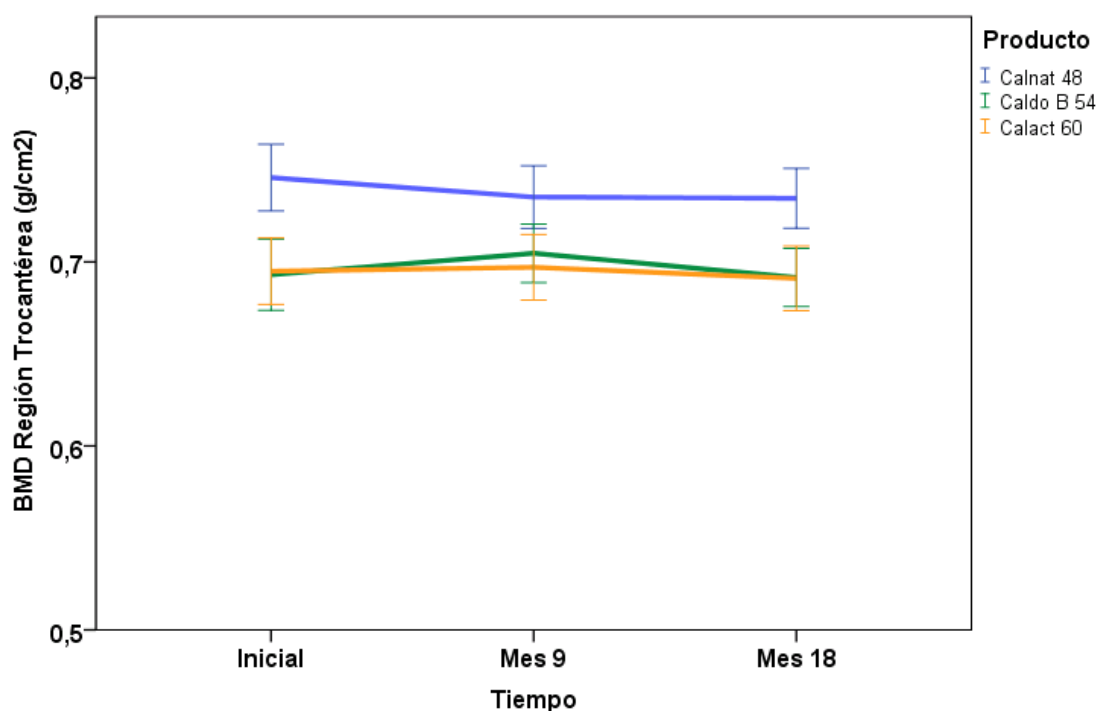


Figura 11. Densidad mineral ósea (g/cm^2) de la región trocantérea para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error ± 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.3.4. Cadera total

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en los valores de la BMD de la cadera total en el grupo “calnat48” de $0,01 \text{ g}/\text{cm}^2$ (1%), el grupo “caldob54” disminuye $0,009 \text{ g}/\text{cm}^2$ (1%) y el grupo “calact60” disminuye $0,028 \text{ g}/\text{cm}^2$ (3%), aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
BMD - Cadera Total Inicial	Calnat 48	,995	,1279	38
	Caldo B 54	,916	,1722	34
	Calact 60	,932	,1240	38
	Total	,949	,1447	110
BMD - Cadera Total Mes 9	Calnat 48	,983	,1285	38
	Caldo B 54	,915	,1747	34
	Calact 60	,928	,1310	38
	Total	,943	,1468	110
BMD - Cadera Total Mes 18	Calnat 48	,985	,1291	38
	Caldo B 54	,907	,1754	34
	Calact 60	,904	,1848	38
	Total	,933	,1673	110

Tabla 15. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable densidad mineral ósea (g/cm²) de la cadera total en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

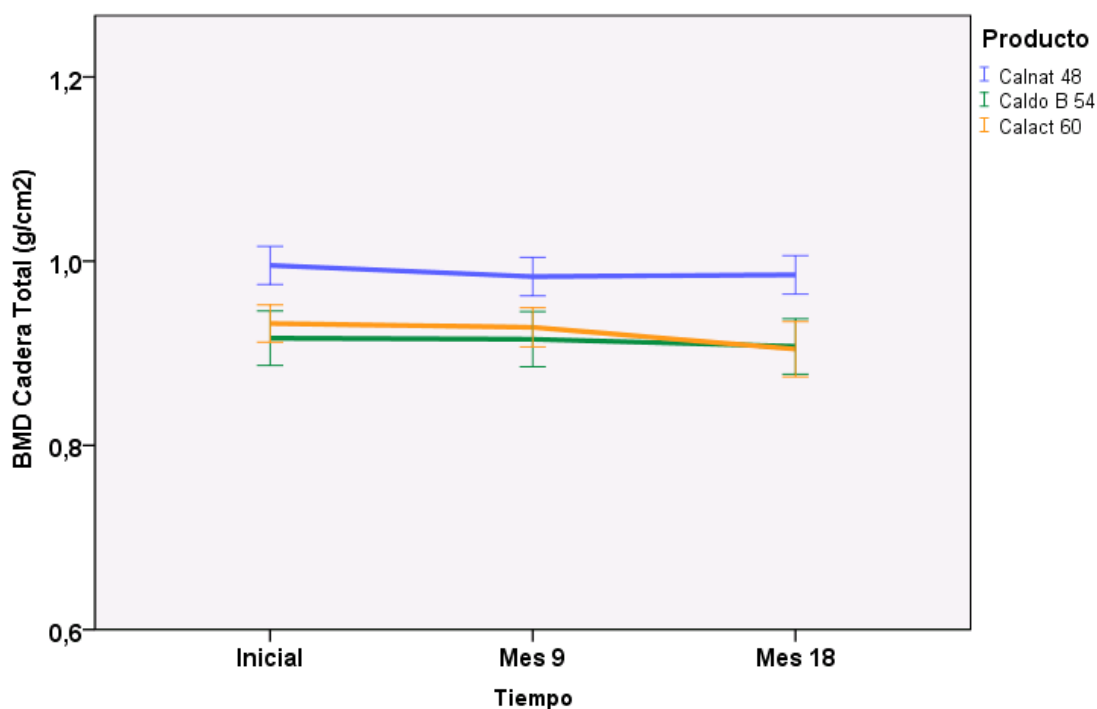


Figura 12. Densidad mineral ósea (g/cm^2) de la cadera total para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error ± 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto

8.3.4. T-Score

8.3.4.1. Columna lumbar

La evolución de esta variable no se modifica en ninguno de los grupos a lo largo de los 18 meses que dura el estudio, es decir, el T-Score de la columna lumbar no varía tras 18 meses de consumo de cada tipo de leche.

Entre los sujetos que pertenecen al grupo “calnat 48”, “caldob54” Y “calact60” no existen diferencias estadísticamente significativas en la evolución de esta variable.

	Producto	Media	Desviación típica	N
T-Score - Columna Lumbar Inicial	Calnat 48	,241	1,4444	38
	Caldo B 54	,233	1,2383	34
	Calact 60	-,094	1,4275	38
	Total	,123	1,3745	110
T-Score - Columna Lumbar Mes 9	Calnat 48	,362	1,3065	38
	Caldo B 54	,276	1,4079	34
	Calact 60	-,090	1,4820	38
	Total	,179	1,4017	110
T-Score - Columna Lumbar Mes 18	Calnat 48	,262	1,2919	38
	Caldo B 54	,295	1,4325	34
	Calact 60	-,035	1,4716	38
	Total	,170	1,3948	110

Tabla 16. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable T-Score de columna lumbar en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

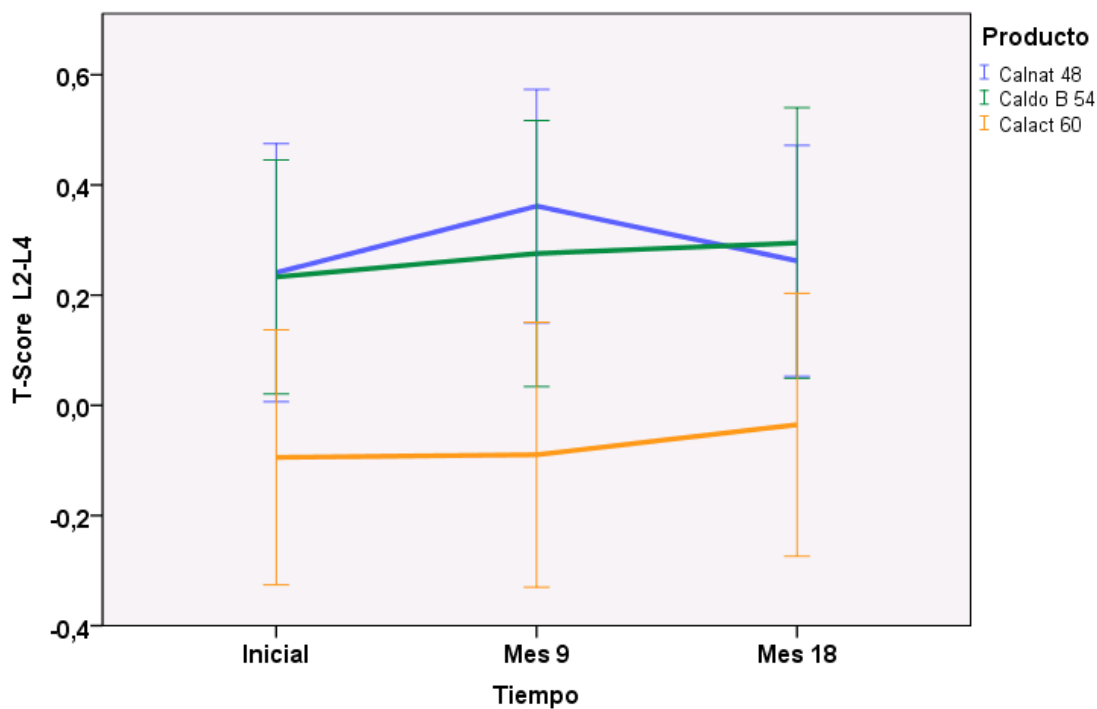


Figura 13. T-Score de la columna lumbar para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto

8.3.4.2. Cuello fémur

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en el T-score del cuello del fémur en el grupo “calnat48” de 0,102 unidades, el grupo “caldob54” disminuye 0,048 unidades y el grupo “calact60” disminuye 0,107 unidades, aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
T-Score - Cuello Fémur Inicial	Calnat 48	1,107	1,2284	38
	Caldo B 54	,599	,9643	34
	Calact 60	,519	1,1985	38
	Total	,747	1,1625	110
T-Score - Cuello Fémur Mes 9	Calnat 48	1,062	1,2149	38
	Caldo B 54	,598	,9538	34
	Calact 60	,364	1,2350	38
	Total	,678	1,1755	110
T-Score - Cuello Fémur Mes 18	Calnat 48	1,005	1,1808	38
	Caldo B 54	,551	1,0332	34
	Calact 60	,412	1,2554	38
	Total	,660	1,1824	110

Tabla 17. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable T-Score del cuello del fémur en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

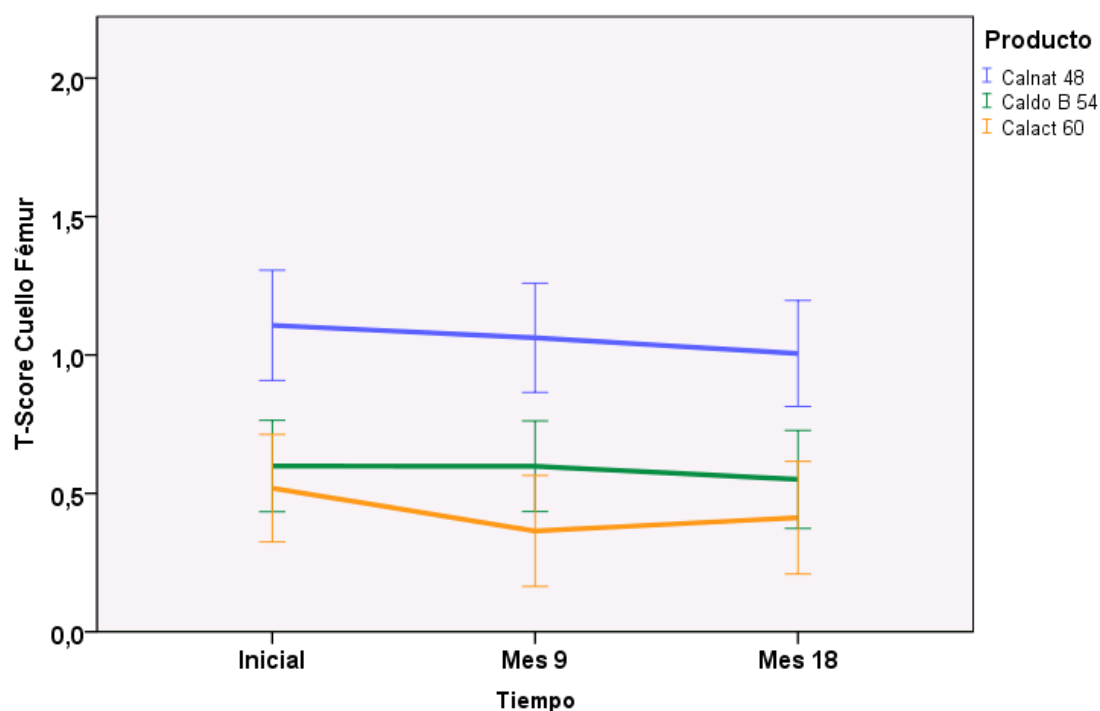


Figura 14. T-Score de la columna lumbar para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

$p < 0,05$ comparado con el estado inicial para los tres grupos a estudio.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.4.3. Región trocantérea

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en los valores de T score de la región trocantérea en el grupo “calnat48” de 0,052 unidades, el grupo “caldob54” disminuye 0,003 unidades y el grupo “calact60” disminuye 0,106 unidades, aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
T-Score - Región Trocantérea Inicial	Calnat 48	1,590	1,0688	38
	Caldo B 54	1,092	,8394	34
	Calact 60	1,148	1,1434	38
	Total	1,283	1,0467	110
T-Score - Región Trocantérea Mes 9	Calnat 48	1,546	1,0965	38
	Caldo B 54	1,165	,9300	34
	Calact 60	1,147	1,1456	38
	Total	1,291	1,0725	110
T-Score - Región Trocantérea Mes 18	Calnat 48	1,538	1,0428	38
	Caldo B 54	1,089	,9566	34
	Calact 60	1,042	1,1344	38
	Total	1,228	1,0652	110

Tabla 18. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable T-Score de la región trocantérea en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

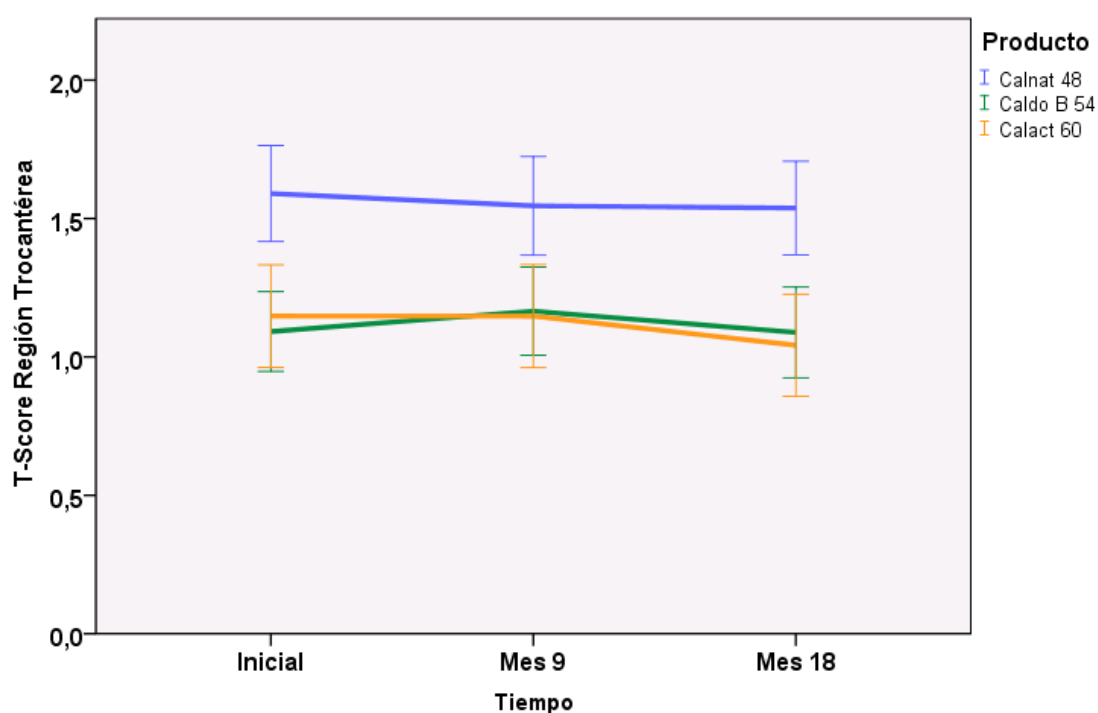


Figura 15. T-Score de la región trocantérea para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error ± 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.5. Z-Score

8.3.5.1. Columna lumbar

Si consideramos al total de la muestra, independientemente del tipo de leche consumida, la evolución de esta variable durante los 18 meses del estudio aumenta de forma significativa ($p < 0,045$), es decir, el consumo de leche enriquecida produce un incremento en los valores de Z-Score de la columna lumbar.

La evolución de cada uno de los grupos indica un aumento en la variable Z-Score de la columna lumbar, presentando más aumento el grupo “caldob54”, de 0,128 unidades. Estos incrementos no son estadísticamente significativos debido posiblemente al tamaño de la muestra. Al comparar los grupos tampoco existe una diferencia estadísticamente significativa en la evolución de esta variable.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Z-Score - Columna Lumbar Inicial	Calnat 48	,435	1,3353	38
	Caldo B 54	,450	1,1945	34
	Calact 60	,129	1,3544	38
	Total	,334	1,2971	110
Z-Score - Columna Lumbar Mes 9	Calnat 48	,571	1,2027	38
	Caldo B 54	,519	1,3250	34
	Calact 60	,167	1,3874	38
	Total	,415	1,3074	110
Z-Score - Columna Lumbar Mes 18	Calnat 48	,499	1,1825	38
	Caldo B 54	,578	1,3257	34
	Calact 60	,198	1,3987	38
	Total	,420	1,3031	110

Tabla 19. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Z-Score de la columna lumbar en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

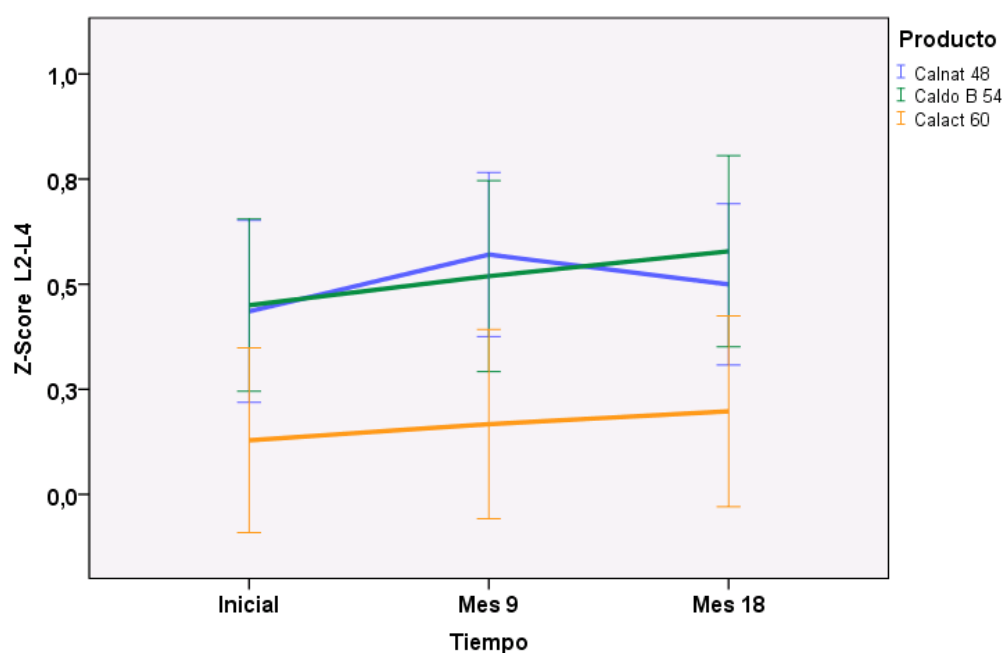


Figura 16. Z-Score de la columna lumbar para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

#p<0,05 comparado con el estado inicial para los tres grupos a estudio.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.5.2. Cuello fémur

Al comparar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en el Z-score del cuello del fémur en el grupo “calnat48” de 0,078 unidades, el grupo “caldob54” disminuye 0,016 unidades y el grupo “calact60” disminuye 0,087 unidades, aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Z-Score - Cuello Fémur Inicial	Calnat 48	1,336	1,1986	38
	Caldo B 54	,875	,9990	34
	Calact 60	,773	1,1999	38
	Total	,999	1,1579	110
Z-Score - Cuello Fémur Mes 9	Calnat 48	1,303	1,1954	38
	Caldo B 54	,891	1,0173	34
	Calact 60	,623	1,2110	38
	Total	,941	1,1739	110
Z-Score - Cuello Fémur Mes 18	Calnat 48	1,258	1,1692	38
	Caldo B 54	,859	1,0852	34
	Calact 60	,686	1,2342	38
	Total	,937	1,1822	110

Tabla 20. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Z-Score del cuello del fémur en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

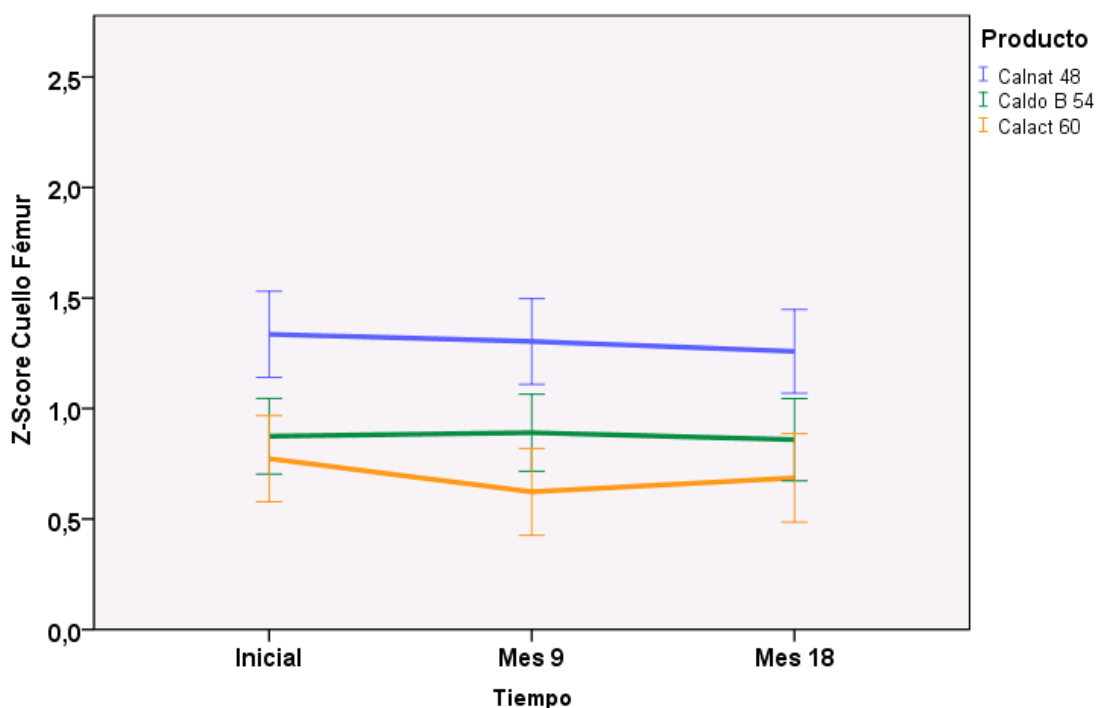


Figura 17. Z-Score del cuello del fémur para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.5.3. Región trocantérea

Al comparar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en los valores de Z score de la región trocantérea en el grupo “calnat48” de 0,052 unidades, el grupo “caldob54” disminuye 0,022 unidades y el grupo “calact60” disminuye 0,074 unidades, aunque los tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Z-Score - Región Trocantérea Inicial	Calnat 48	1,590	1,0688	38
	Caldo B 54	1,111	,8298	34
	Calact 60	1,158	1,1394	38
	Total	1,293	1,0413	110
Z-Score - Región Trocantérea Mes 9	Calnat 48	1,546	1,0965	38
	Caldo B 54	1,186	,9246	34
	Calact 60	1,147	1,1456	38
	Total	1,297	1,0704	110
Z-Score - Región Trocantérea Mes 18	Calnat 48	1,538	1,0428	38
	Caldo B 54	1,089	,9566	34
	Calact 60	1,084	1,1283	38
	Total	1,242	1,0606	110

Tabla 21. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Z-Score de la región trocantérea en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

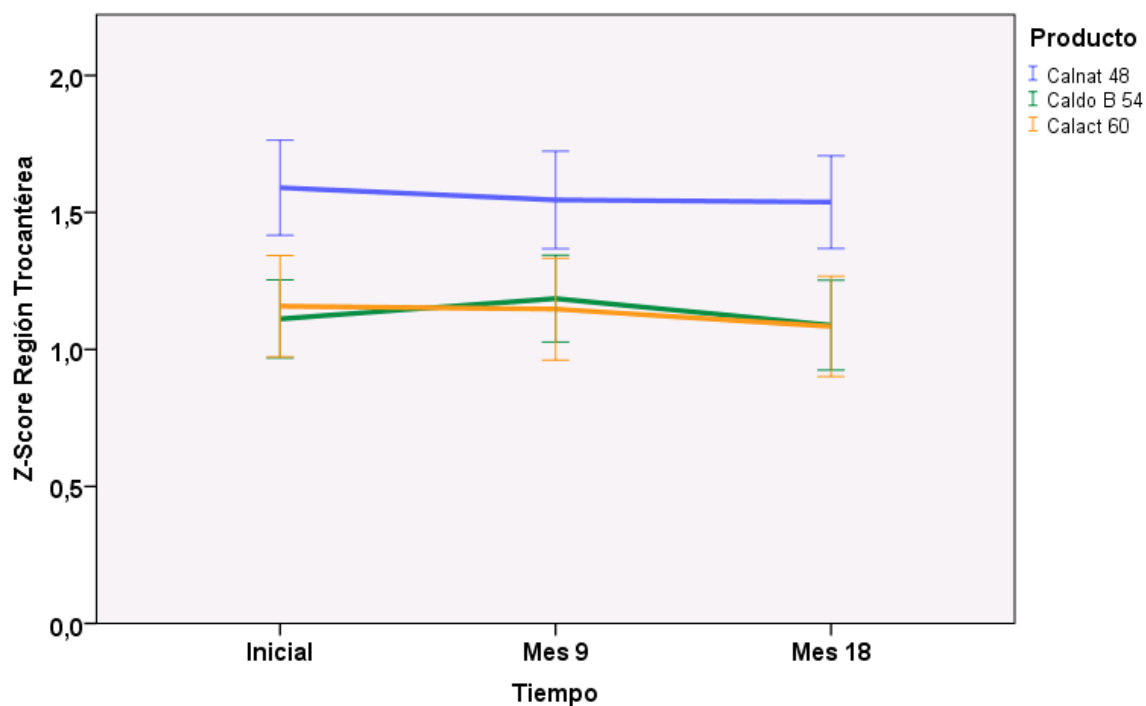


Figura 18. Z-Score de la región trocantérea para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.6. VARIABLES URINARIAS

8.3.6.1. Deoxipiridinolina (DPIR)

Al valorar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, no apreciamos variaciones significativas durante los 18 meses en ninguno de los grupos.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Desoxipiridinolina Inicial	Calnat 48	6,924	3,8405	37
	Caldo B 54	6,126	1,8917	34
	Calact 60	7,239	3,5143	38
	Total	6,785	3,2337	109
Desoxipiridinolina Mes 9	Calnat 48	7,765	6,5480	37
	Caldo B 54	8,353	8,2411	34
	Calact 60	9,695	9,4688	38
	Total	8,621	8,1510	109
Desoxipiridinolina Mes 18	Calnat 48	9,878	23,8832	37
	Caldo B 54	8,176	7,2027	34
	Calact 60	11,221	16,8761	38
	Total	9,816	17,4671	109

Tabla 23. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable DesoxiPiridinolina (nmol/mmol Creatinina) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60). Barras de error +/- 1 ET.

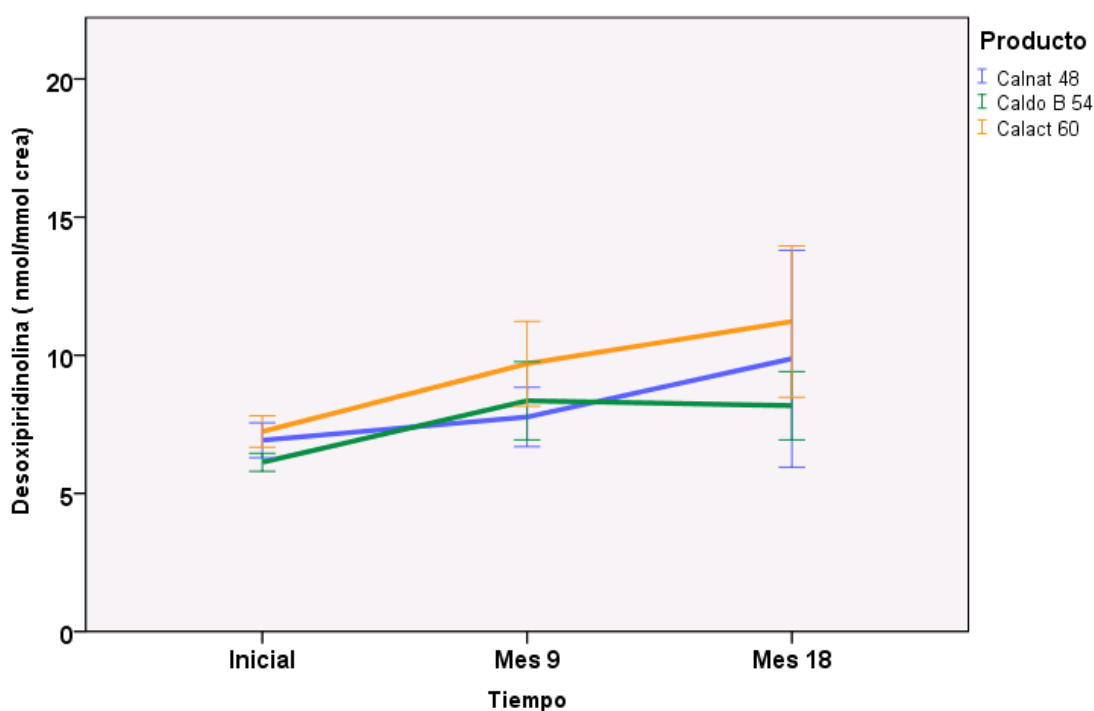


Figura 19. Valores de la variable Desoxipiridinolina para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.6.2. Telopéptidos del colágeno tipo I (NTx)

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, no apreciamos variaciones significativas durante los 18 meses en ninguno de los grupos excepto en el grupo calact 60 en el que se observa un descenso de esta variable entre el mes 9 y el mes 18 ($p < 0,013$).

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se aprecian diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Telopéptido aminoterminal tipo 1 Inicial	Calnat 48	34,876	27,1318	37
	Caldo B 54	31,782	13,5489	34
	Calact 60	37,597	12,8803	39
	Total	34,885	19,0309	110
Telopéptido aminoterminal tipo 1 Mes 9	Calnat 48	34,419	14,7462	37
	Caldo B 54	40,968	18,6731	34
	Calact 60	42,738	25,9266	39
	Total	39,393	20,6131	110
Telopéptido aminoterminal tipo 1 Mes 18	Calnat 48	44,562	30,6755	37
	Caldo B 54	44,524	28,5456	34
	Calact 60	37,746	19,3025	39
	Total	42,134	26,4206	110

Tabla 24. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Telopéptidos del colágeno tipo I (NTx) (nmol/mmol creatinina) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

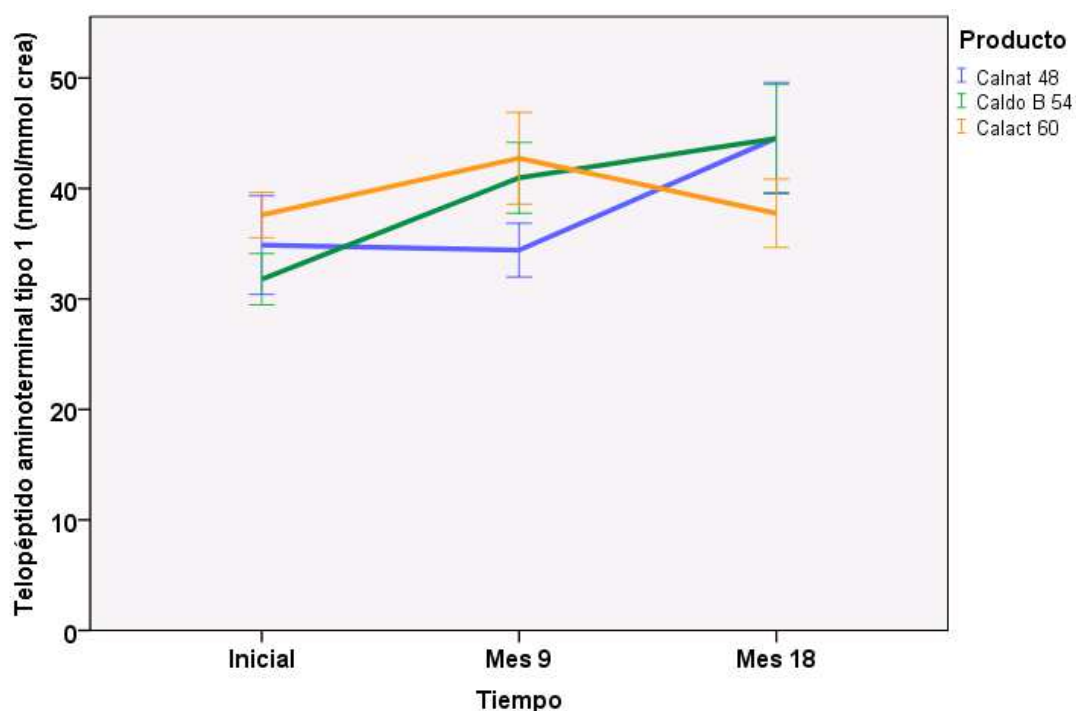


Figura 20. Valores de la variable Telopéptidos del colágeno tipo I (NTx) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET

8.3.7. VARIABLES SANGUÍNEAS

8.3.7.1. Fosfatasa ácida tartrato resistente

Si consideramos al total de la muestra, independientemente del tipo de leche consumida, la evolución de esta variable durante los 18 meses del estudio aumenta de forma significativa ($p < 0,001$), es decir, el consumo de leche enriquecida produce un incremento en los valores de fosfatasa ácida tartrato resistente.

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos un aumento en los niveles de Fosfatasa ácida tartrato resistente en el grupo "calnat48" en 0,589 UI/l (29,5%), en el grupo "caldob54" en 0,533 UI/l (20,7%) y en el grupo "calact60" en 0,563 UI/l (28%), los tres de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Fosfatasa ácida tartrato resistente Inicial	Calnat 48	1,995	,4549	38
	Caldo B 54	2,077	,4488	34
	Calact 60	2,011	,3935	37
	Total	2,026	,4305	109
Fosfatasa ácida tartrato resistente Mes 9	Calnat 48	2,567	,3235	38
	Caldo B 54	2,892	1,6505	34
	Calact 60	2,661	,2965	37
	Total	2,700	,9570	109
Fosfatasa ácida tartrato resistente Mes 18	Calnat 48	2,584	,4321	38
	Caldo B 54	2,610	,3287	34
	Calact 60	2,574	,3442	37
	Total	2,589	,3697	109

Tabla 25. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Fosfatasa ácida tartrato resistente (UI/l) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

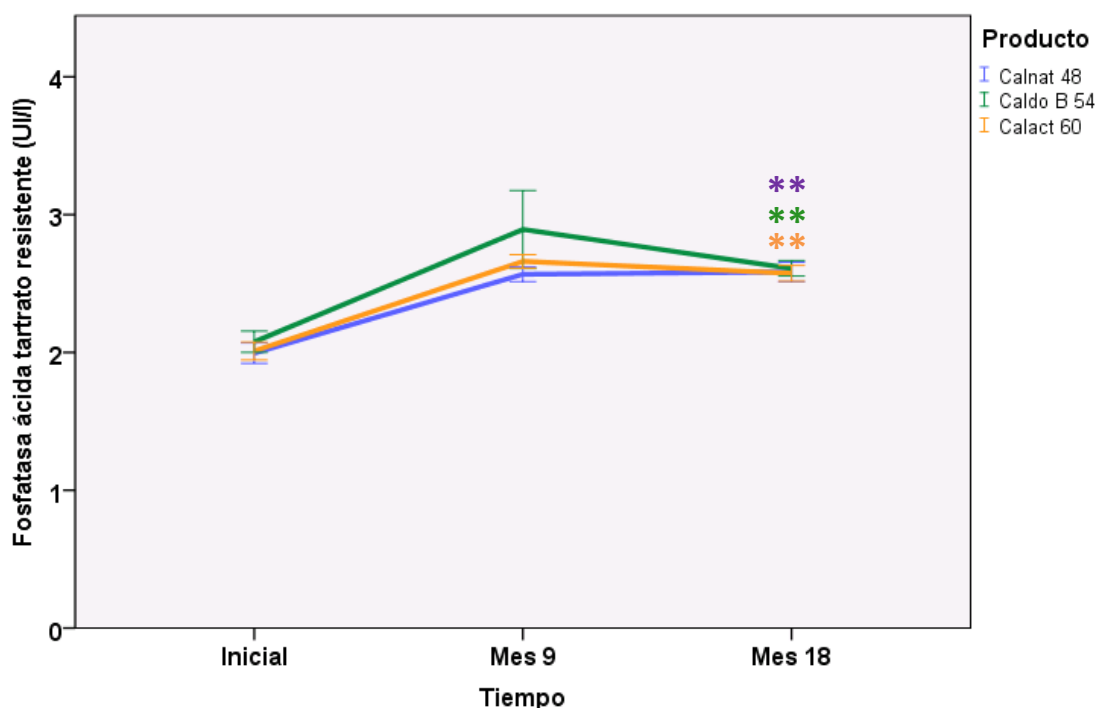


Figura 21. Valores de la variable Fosfatasa ácida tartrato resistente (UI/l) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto

** $p < 0,01$ comparado con el estado inicial).

8.3.7.2. Osteocalcina (OC)

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, no apreciamos variaciones significativas durante los 18 meses en ninguno de los grupos.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se aprecian diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Osteocalcina Inicial	Calnat 48	6,255	3,6782	38
	Caldo B 54	5,474	2,0443	34
	Calact 60	6,189	2,2436	37
	Total	5,989	2,7771	109
Osteocalcina Mes 9	Calnat 48	6,208	2,2079	38
	Caldo B 54	5,626	2,1991	34
	Calact 60	6,135	2,1456	37
	Total	6,002	2,1789	109
Osteocalcina Mes 18	Calnat 48	6,084	2,4264	38
	Caldo B 54	5,518	2,4242	34
	Calact 60	5,543	3,1886	37
	Total	5,724	2,6966	109

Tabla 26. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Osteocalcina (ng/ml) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

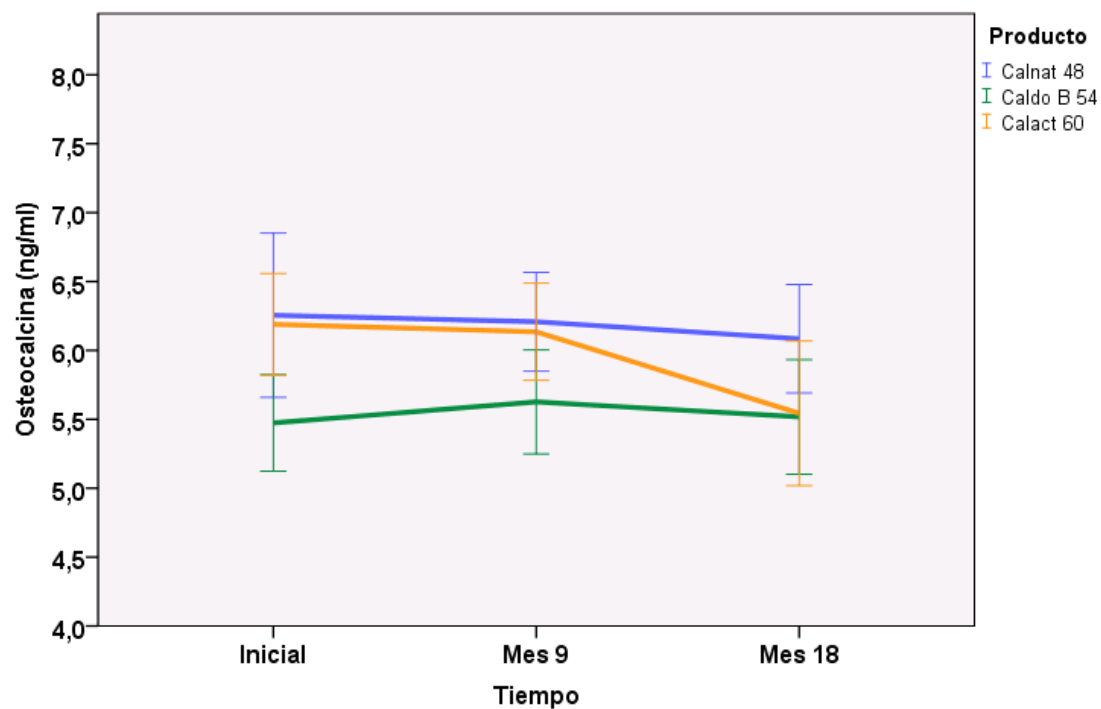


Figura 22. Valores de la variable Osteocalcina (ng/ml) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto

8.3.7.3. Fosfatasa alcalina (Isoenzima ósea)

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, se aprecia un ascenso no significativo durante los primeros nueve meses en los grupos “calact60” y “caldob54”; en la segunda mitad del seguimiento (desde mes 9 a mes 18) se observa descenso de esta variable hasta alcanzar valores iniciales (solo es significativo el descenso del grupo que consume “calact60” entre el mes 9 y el 18 ($p < 0,001$)).

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Fosfatasa alcalina Inicial	Calnat 48	9,289	2,8180	38
	Caldo B 54	9,382	2,4123	34
	Calact 60	10,474	3,5848	38
	Total	9,727	3,0195	110
Fosfatasa alcalina Mes 9	Calnat 48	9,421	2,2617	38
	Caldo B 54	10,324	2,6711	34
	Calact 60	11,579	5,0545	38
	Total	10,445	3,6588	110
Fosfatasa alcalina Mes 18	Calnat 48	8,789	2,3384	38
	Caldo B 54	9,471	2,2325	34
	Calact 60	10,000	3,1537	38
	Total	9,418	2,6453	110

Tabla 27. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Fosfatasa alcalina ósea (mcg/l) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

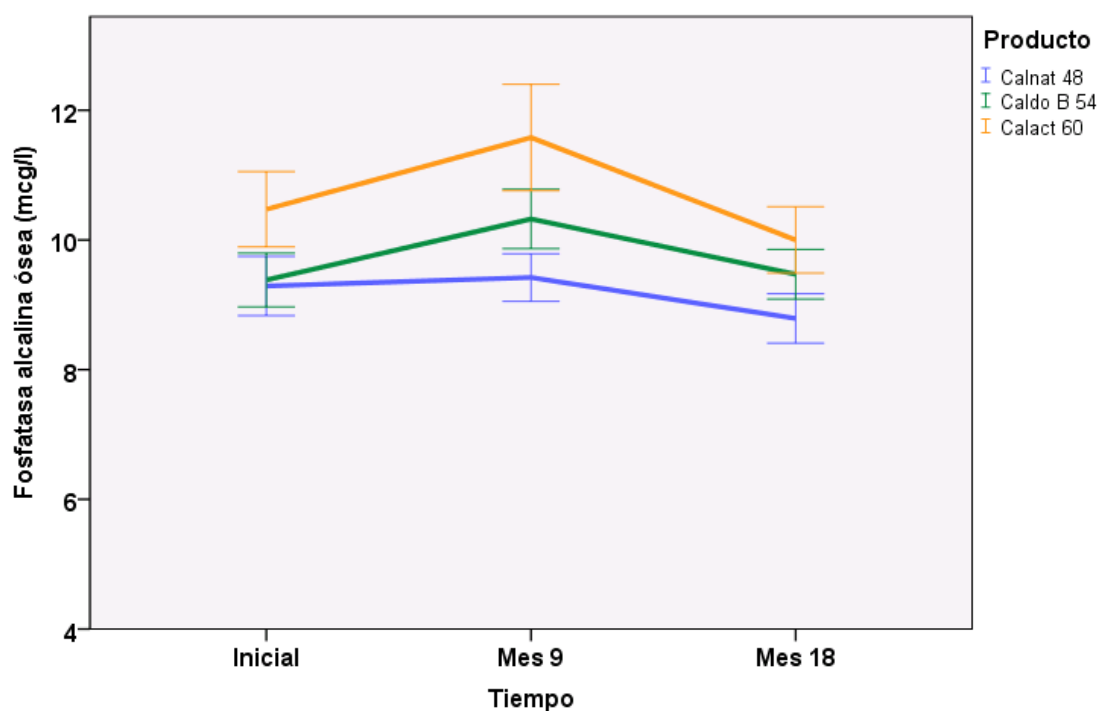


Figura 23. Valores de la variable Fosfatasa alcalina ósea (mcg/l) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.7.4. Parathormona Intacta (PTH-I)

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, no apreciamos variaciones significativas durante los 18 meses en ninguno de los grupos.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se aprecian diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
PTH Inicial	Calnat 48	31,711	11,1061	38
	Caldo B 54	28,515	11,4840	33
	Calact 60	29,316	13,5947	38
	Total	29,908	12,1041	109
PTH Mes 9	Calnat 48	28,289	10,2110	38
	Caldo B 54	28,485	12,7552	33
	Calact 60	28,658	13,5153	38
	Total	28,477	12,1049	109
PTH Mes 18	Calnat 48	31,526	11,4484	38
	Caldo B 54	32,758	11,1916	33
	Calact 60	31,132	12,4969	38
	Total	31,761	11,6610	109

Tabla 28. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Parathormona Intacta (pg/ml) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

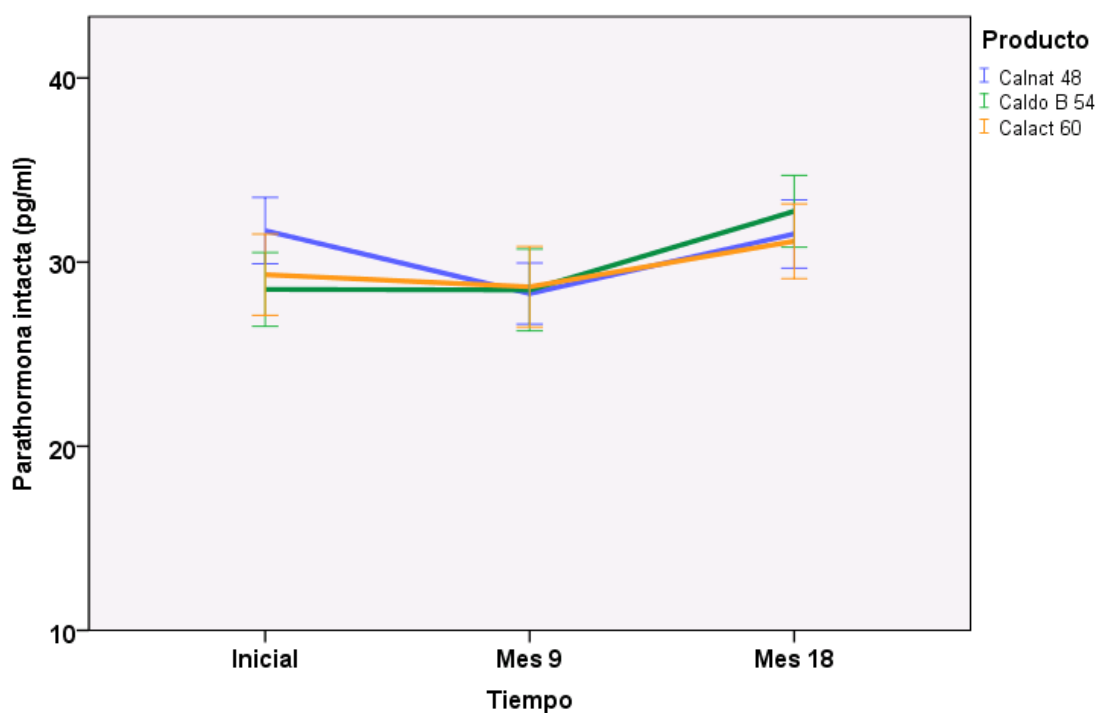


Figura 24. Valores de la variable Parathormona Intacta (pg/ml) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto

8.3.7.5. 1-25 diOH colecalciferol (Vitamina D)

Si consideramos al total de la muestra, independientemente del tipo de leche consumida, la evolución de esta variable durante los 18 meses del estudio aumenta de forma significativa ($p < 0,001$), es decir, el consumo de leche enriquecida produce un incremento en los valores de Vitamina D.

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos un aumento significativo en los niveles de Vitamina D de 13,029 pg/ml (27,3%) en el grupo “caldob54” ($p < 0,014$), de 7,868 pg/ml (14%) en el grupo “calnat48” ($p < 0,017$) y de 9,289 pg/ml (16,7%) en el grupo “calact60” ($p < 0,001$).

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Vitamina D Inicial	Calnat 48	56,211	20,7184	38
	Caldo B 54	47,706	18,1835	34
	Calact 60	55,737	18,9490	38
	Total	53,418	19,5567	110
Vitamina D Mes 9	Calnat 48	53,184	11,0401	38
	Caldo B 54	50,647	13,7662	34
	Calact 60	49,868	12,6836	38
	Total	51,255	12,4675	110
Vitamina D Mes 18	Calnat 48	64,079	18,9171	38
	Caldo B 54	60,735	18,8685	34
	Calact 60	65,026	24,5846	38
	Total	63,373	20,9218	110

Tabla 29. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Vitamina D (pg/ml) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

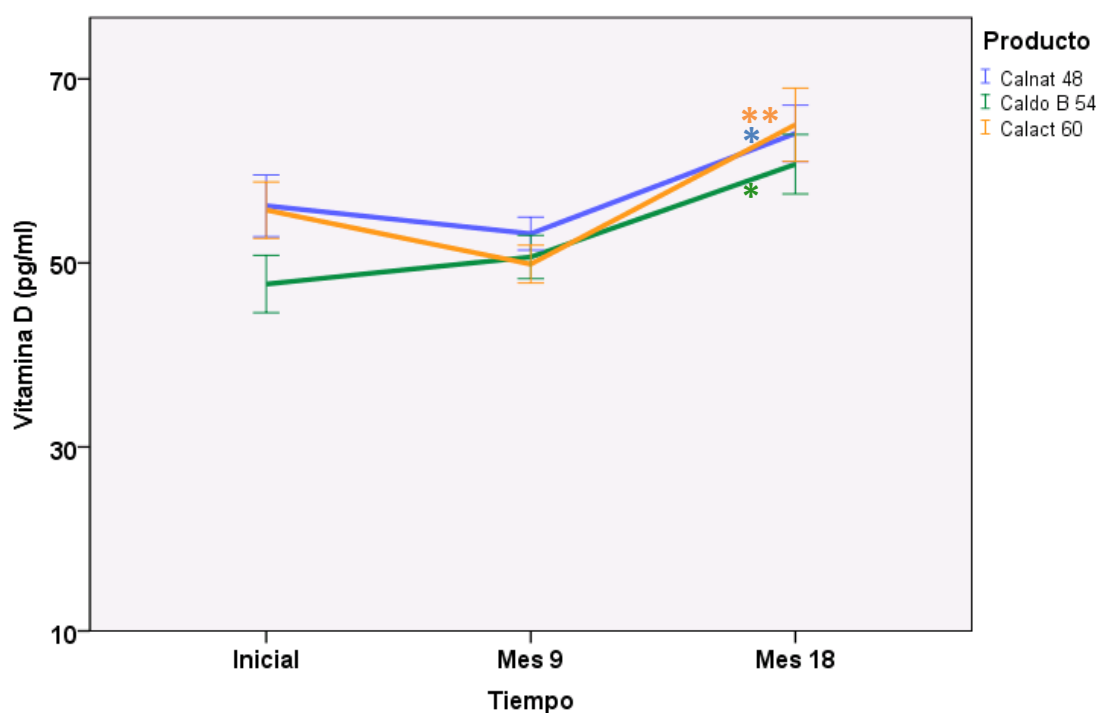


Figura 25. Valores de la variable Vitamina D (pg/ml) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldo b54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

* $p < 0,05$ comparado con el estado inicial.

8.3.7.6. Calcemia

Si consideramos al total de la muestra, independientemente del tipo de leche consumida, la evolución de esta variable durante los 18 meses del estudio disminuye de forma significativa ($p < 0,001$), es decir, el consumo de leche enriquecida produce un descenso en los valores de Calcemia.

Al comparar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos una disminución en los niveles de los niveles de Calcemia, disminuyendo en el grupo “calnat48” un 0,232 mg/dl (2,3%), en el grupo “caldob54” un 0,409 mg/dl (4,1%) y en el grupo “calact60” un 0,098 mg/dl (1%), las tres de forma no significativa.

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Calcemia Inicial	Calnat 48	9,916	,6249	38
	Caldo B 54	10,088	,5756	34
	Calact 60	9,595	1,4965	37
	Total	9,861	1,0115	109
Calcemia Mes 9	Calnat 48	9,416	,4024	38
	Caldo B 54	9,494	,4445	34
	Calact 60	9,451	,3477	37
	Total	9,452	,3964	109
Calcemia Mes 18	Calnat 48	9,684	,4699	38
	Caldo B 54	9,679	,4804	34
	Calact 60	9,497	,4272	37
	Total	9,619	,4634	109

Tabla 30. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Calcemia (mg/dl) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

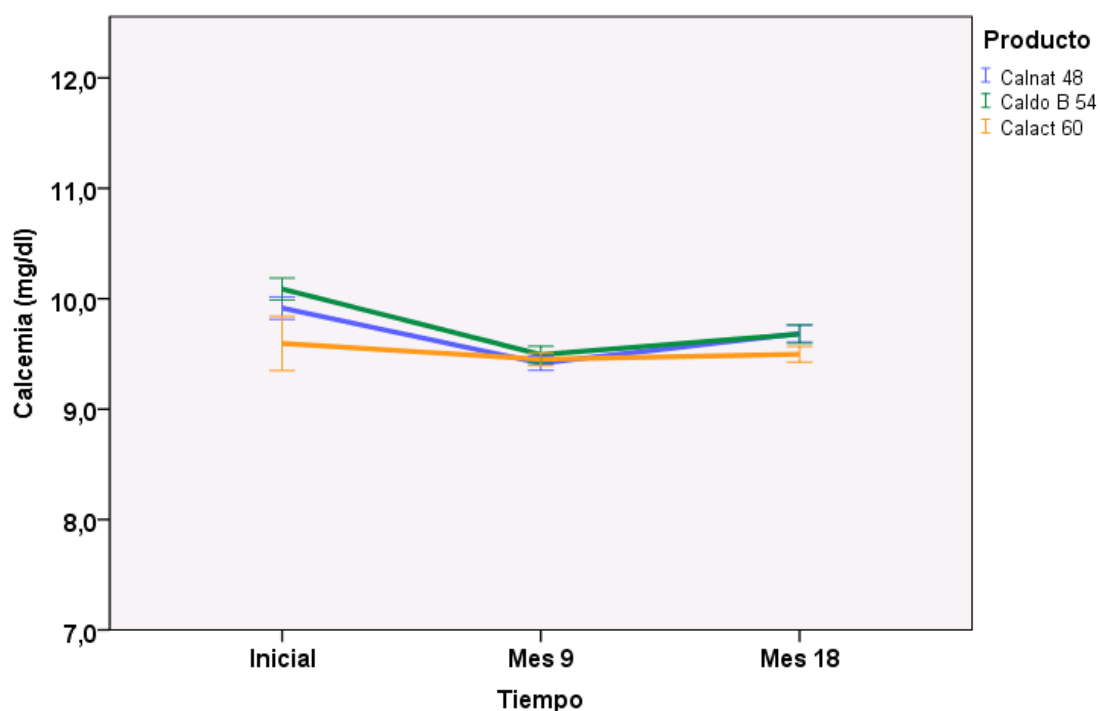


Figura 26. Valores de la variable Calcemia (mg/dl) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

8.3.7.7. Fosfatemia

Si consideramos al total de la muestra, independientemente del tipo de leche consumida, la evolución de esta variable durante los 18 meses del estudio aumenta de forma significativa ($p=0,001$), es decir, el consumo de leche enriquecida produce un incremento en los valores de Fosfatemia.

Al analizar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos un aumento en los niveles de Fosfatemia, aumentando el grupo “calnat48” en un 0,479 mg/dl (13,5%), el grupo “caldob54” en un 0,844 mg/dl (26,5%) y el grupo “calact60” en un 0,532 mg/dl (16,4%), los tres de forma estadísticamente significativa ($p<0,001$).

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Fosfatemia Inicial	Calnat 48	3,545	,5880	38
	Caldo B 54	3,185	,5141	34
	Calact 60	3,249	,4240	37
	Total	3,332	,5331	109
Fosfatemia Mes 9	Calnat 48	4,645	,7710	38
	Caldo B 54	4,641	,7636	34
	Calact 60	4,430	,8547	37
	Total	4,571	,7973	109
Fosfatemia Mes 18	Calnat 48	4,024	,4773	38
	Caldo B 54	4,029	,5220	34
	Calact 60	3,781	,4527	37
	Total	3,943	,4932	109

Tabla 31. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Fosfatemia (mg/dl) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

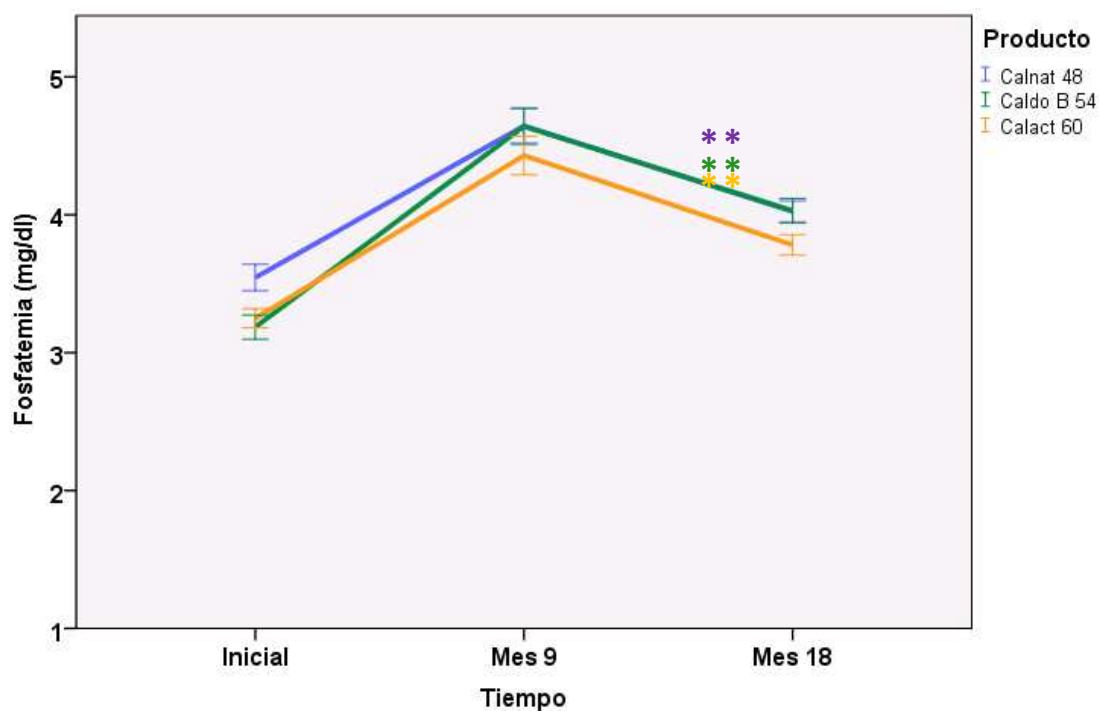


Figura 27. Valores de la variable Fosfatemia (mg/dl) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto.

** $P < 0,01$ comparado con el estado inicial.

8.3.7.8. Magnesemia

Si consideramos al total de la muestra, independientemente del tipo de leche consumida, la evolución de esta variable durante los 18 meses del estudio aumenta de forma significativa ($p < 0,001$), es decir, el consumo de leche enriquecida produce un incremento en los valores de Magnesemia.

Al comparar la evolución de esta variable en cada uno de los grupos a estudio, apreciamos un aumento en los niveles de Magnesemia, aumentando el grupo "calnat48" en un 0,177 mg/dl (8,6%) de forma significativa ($p < 0,001$), el grupo "caldob54" en un 0,128 mg/dl (6,2%) de forma significativa ($p < 0,005$) y el grupo "calact60" en un 0,127 mg/dl (6,1%), de forma significativa ($p < 0,003$).

Al realizar la comparativa en la evolución entre los tres tipos de leche durante los 18 meses de ingesta no se apreciaron diferencias significativas.

	Producto	Media	Desviación típica	N
Magnesemia Inicial	Calnat 48	2,066	,1232	38
	Caldo B 54	2,065	,1117	34
	Calact 60	2,075	,1395	37
	Total	2,069	,1246	109
Magnesemia Mes 9	Calnat 48	2,057	,1703	38
	Caldo B 54	2,030	,1371	34
	Calact 60	1,969	,1227	37
	Total	2,019	,1487	109
Magnesemia Mes 18	Calnat 48	2,243	,2924	38
	Caldo B 54	2,193	,1944	34
	Calact 60	2,202	,1539	37
	Total	2,214	,2219	109

Tabla 32. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la variable Magnesemia (mg/dl) en cada uno de los instantes (Inicial, mes 9 y mes 18) y para cada uno de los grupos a estudio (Calnat48, Caldob54 y Calact60).

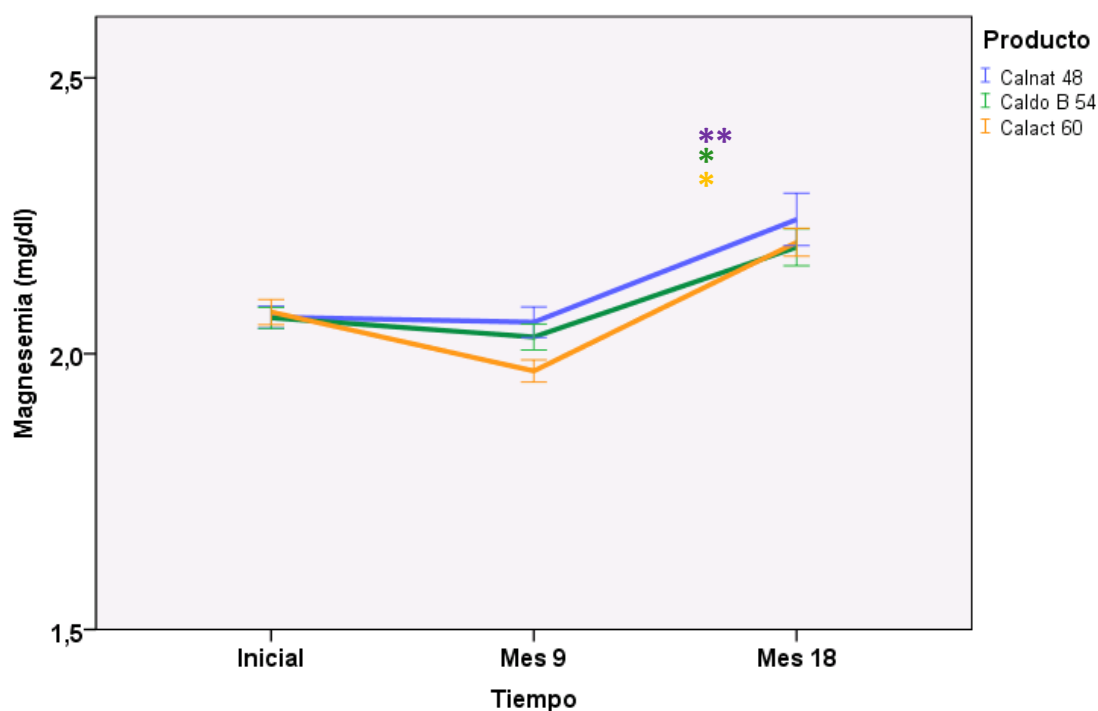


Figura 28. Valores de la variable Magnesemia (mg/dl) para cada grupo a estudio evaluado (Calnat48, Caldob54 y Calact60) en diferentes tiempos. Barras de error +/- 1 ET.

ANOVA para medidas repetidas con un factor intrasujeto y un factor intersujeto

**P<0,01 comparado con el estado inicial.

8.3.8. RESUMEN E INTERPRETACIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS DE REMODELACIÓN ÓSEA

La remodelación ósea es un proceso dinámico y acoplado en el cual existe una continua destrucción (resorción) del hueso viejo por los osteoclastos y formación de hueso nuevo por los osteoblastos. Está regulada por factores mecánicos, hormonales (PTH, vitamina D, hormonas tiroideas, estrógenos, cortisol, hormona de crecimiento, andrógenos), factores de crecimiento (IGF-I) y citoquinas (IL-1 y IL-6).

La masa ósea se incrementa durante la infancia y la adolescencia alcanzando su máximo valor en la tercera década de la vida. A partir de ese momento se va perdiendo masa ósea lentamente debido a que el proceso de resorción excede al de formación. Esta pérdida lenta de hueso se ve acelerada en enfermedades metabólicas como la osteoporosis.

Los marcadores óseos bioquímicos son un reflejo de este proceso de remodelación y pueden ser medidos en sangre y en orina.

Marcadores de resorción ósea

Pueden medirse como:

- Producto de la síntesis de los osteoclastos:
 - Fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR). Es un marcador poco sensible.
- Productos de degradación de la matriz mineral:
 - Calcio urinario. Es un marcador muy poco sensible.
- Productos de degradación del colágeno:
 - Hidroxiprolina. La mayoría de la hidroxiprolina procede de la degradación del colágeno aunque esta no es su única fuente. Es un marcador que carece de sensibilidad y especificidad para evaluar cambios sutiles en la resorción ósea.
 - Enlaces (Crosslinks) de colágeno: piridinolona y desoxipiridinolona. Son aminoácidos que forman puentes de entrecruzamiento que estabilizan cadenas colágenas dentro de la matriz extracelular. Ambas se liberan del hueso debido a la degradación de los osteoclastos. La desoxipiridinolona es más específica que la piridinolona.
 - Telopéptidos N terminal de colágeno tipo I (NTx). Son péptidos excretados en orina como resultado de la destrucción del colágeno I por los osteoclastos. Es el marcador de resorción ósea más específico.

Marcadores de formación ósea:

Todos son proteínas sintetizadas por los osteoblastos.

- Fosfatasa alcalina ósea (FAO). Los osteoblastos son ricos en fosfatasa alcalina ósea. Es uno de los isoenzimas de la fosfatasa alcalina. Junto con la hepática intestinal y placentaria forman la fosfatasa alcalina total.
- Osteocalcina (OC). Es la mayor proteína no colágena del hueso. Su concentración en suero refleja la actividad osteoblástica. Su incremento en el suero se asocia a la mineralización del hueso pero las concentraciones no son siempre paralelas a las de la fosfatasa alcalina ósea.
- Propéptido carboxiterminal de procolágeno tipo I (PICP). El procolágeno I es una molécula precursora del colágeno tipo I. Su cuantificación da una idea de la velocidad de síntesis del colágeno tipo I. Cualquier tejido que sintetiza colágeno tipo I (hueso, piel) libera propéptidos lo que hace a este marcador menos específico que la osteocalcina o la fosfatasa alcalina ósea.

Resumen resultados de las variables bioquímicas de remodelación ósea.

En las siguientes tablas aparece un resumen de los datos bioquímicos de remodelación ósea y de otras variables bioquímicas.

MARCADORES DE RESORCIÓN			
Variable	Producto	Inicial	Mes 18
Deoxidopiridinolina (nmol/mmol Crea)	Calnat48	6,9 ± 3,8	9,8 ± 23,8
	Caldo B 54	6,1 ± 1,9	8,2 ± 7,2
	Calact60	7,2 ± 3,5	11,2 ± 16,8
Telopéptido amino terminal tipo 1 (nmol/mmol Crea)	Calnat48	34,8 ± 27,1	44,6 ± 30,7
	Caldo B 54	31,7 ± 13,5	44,5 ± 28,5
	Calact60	37,6 ± 12,8	37,7 ± 19,3
Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (UI/l)	Calnat48	1,9 ± 0,45	2,6 ± 0,43**
	Caldo B 54	2,1 ± 0,45	2,6 ± 0,33**
	Calact60	2,0 ± 0,39	2,6 ± 0,34**

Tabla 33. Evolución temporal de los marcadores osteolíticos: Deoxidopiridinolina, Telopéptido amino terminal tipo 1, Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (media y desviación típica), entre el momento inicial y el mes 18. (* $p < 0,05$ comparado con el estado inicial; ** $p < 0,01$ comparado con el estado inicial).

MARCADORES DE FORMACIÓN			
Variable	Producto	Inicial	Mes 18
Osteocalcina (ng/ml)	Calnat48	6,2 ± 5,5	6,1 ± 2,4
	Caldo B 54	5,5 ± 2	5,5 ± 2,4
	Calact60	6,1 ± 2,2	5,5 ± 3,2
Fosfatasa Alcalina Isoenzima Ósea (mcg/l)	Calnat48	9,3 ± 2,8	8,8 ± 2,3
	Caldo B 54	9,4 ± 2,4	9,5 ± 2,2
	Calact60	10,5 ± 3,6	10 ± 3,1

Tabla 34. Evolución temporal de los marcadores osteogénicos: Osteocalcina, Fosfatasa Alcalina Isoenzima Ósea (media y desviación típica), entre el momento inicial y el mes 18. (## $p < 0,01$ comparado con el estado inicial entre los grupos estudio).

Variable	Producto	Inicial	Mes 18
Parathormona Intacta (pg/ml)	Calnat48	31,7±11,1	31,5±11,4
	Caldo B 54	28,5±11,5	32,7±11,2
	Calact60	29,3±13,6	31,1±12,5
Vitamina D (pg/ml)	Calnat48	56,2±20,7	64,1±18,9*
	Caldo B 54	47,7±18,2	60,7±18,9*
	Calact60	55,7±18,9	65,0±24,5**
Calcemia (mg/dl)	Calnat48	9,9±0,6	9,7±0,5
	Caldo B 54	10,1±0,6	9,7±0,5
	Calact60	9,6±1,5	9,5±0,4
Fosfatemia (mg/dl)	Calnat48	3,5±0,6	4,0±0,5**
	Caldo B54	3,2±0,5	4,0±0,5**
	Calact60	3,2±0,4	3,8±0,4**
Magnesemia (mg/dl)	Calnat48	2,1±0,1	2,2±0,3**
	Caldo B 54	2,1±0,1	2,2±0,2*
	Calact60	2,1±0,1	2,2±0,1*

Tabla 35. Evolución temporal de la Parathormona Intacta, Vitamina D, Calcemia, Fosfatemia, Magnesemia (media y desviación típica) entre el momento inicial y el mes 18. (* $p < 0,05$ comparado con el estado inicial; ** $p < 0,01$ comparado con el estado inicial).

En este estudio se ha analizado la deoxipiridinolina urinaria, el telopéptido tipo I del colágeno (NTx) sérico y la fosfatasa ácida tartrato resistente como variables de resorción ósea y la osteocalcina y la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina como variables de formación ósea. En general, no se aprecian modificaciones en las variables del metabolismo óseo durante los 18 meses de consumo de los productos; la única variable que presenta variaciones significativas es la fosfatasa ácida tartrato resistente que se incrementa durante los 18 meses de seguimiento es decir, atendiendo a esta variación se puede afirmar que el consumo de estos productos incrementa los procesos osteolíticos del hueso.

En las variables urinarias no se han encontrado modificaciones en ningún grupo del estudio.

En cuanto a las variables densitométricas Hemos apreciado mejoría en la masa ósea de algunas regiones (columna lumbar) que no se han visto correlacionadas con modificaciones en los marcadores bioquímicos de remodelación ósea; solamente se ha producido una modificación en una variable osteolítica que, además es poco sensible.

8.3.9. VARIABLES ORGANOLÉPTICAS Y OPINIÓN DEL CONSUMIDOR

8.3.9.1. Textura del producto

Respecto a la textura del producto, el 51,8% opinó que le gusta mucho, el 18,2% opinó que le gusta, el 14,5% consideró que ni le gusta ni le disgusta, y el 15.5% manifestó que el producto no le gustaba.

		Frecuencia	Porcentaje
Sujetos	No me gusta	17	15,5
	Ni me gusta ni me disgusta	16	14,5
	Me gusta	20	18,2
	Me gusta mucho	57	51,8
	Total	110	100,0

Tabla 36. Distribución de los sujetos pertenecientes al estudio respecto a la valoración obtenida de la textura del producto

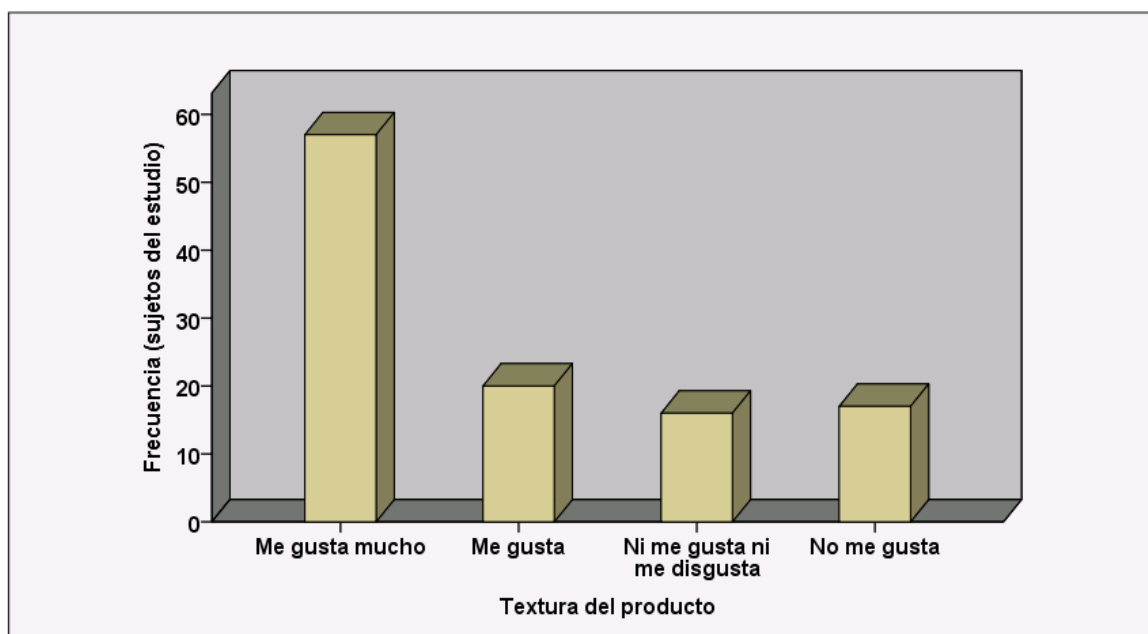


Figura 29. Evaluación subjetiva de la textura del producto por parte de los sujetos del estudio a los 18 meses. Frecuencia relativa en escala de nivel de satisfacción (n=110).

8.3.9.2. Olor del producto

Respecto al olor del producto, el 70,9% opinó que le gusta mucho, el 20,9% opinó que le gusta, el 5,5% consideró que ni le gusta ni le disgusta, y el 2,7% manifestó que el olor no le gustaba.

		Frecuencia	Porcentaje
Sujetos	No me gusta	3	2,7
	Ni me gusta ni me disgusta	6	5,5
	Me gusta	23	20,9
	Me gusta mucho	78	70,9
	Total	110	100,0

Tabla 37. Distribución de los sujetos pertenecientes al estudio respecto a la valoración obtenida del olor del producto.

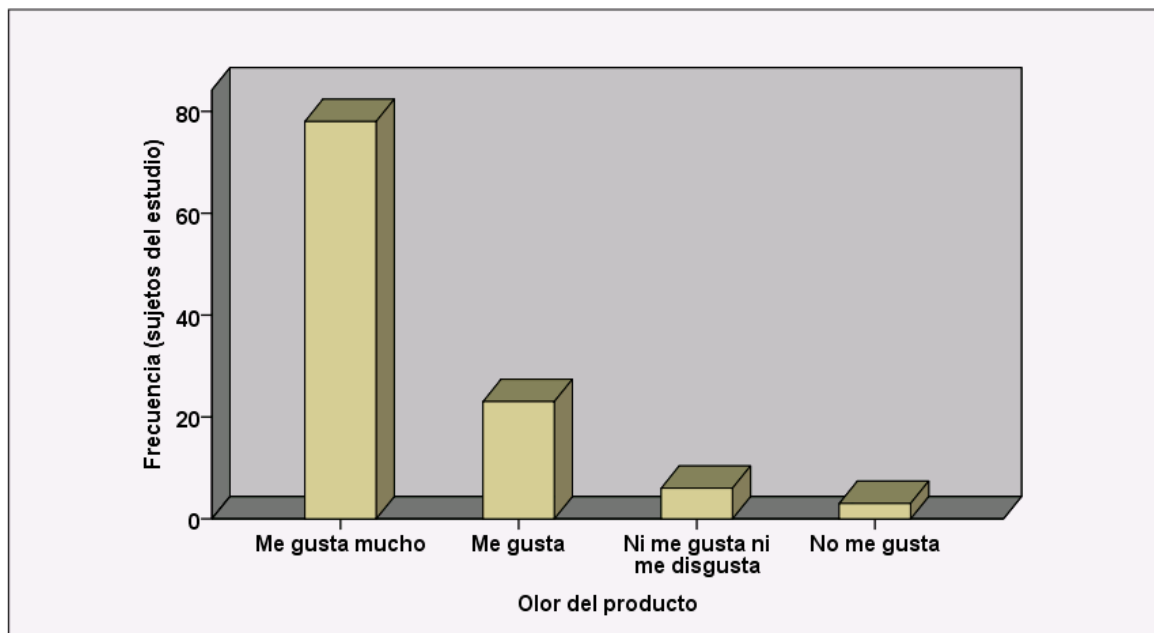


Figura 30. Evaluación subjetiva del olor del producto por parte de los sujetos del estudio a los 18 meses. Frecuencia relativa en escala de nivel de satisfacción (n=110).

8.3.9.3. Agradabilidad del producto

Respecto a la agradabilidad del producto, el 66,4% opinó que le gusta mucho, el 16,4% opinó que le gusta, el 7,3% consideró que ni le gusta ni le disgusta, y el 10% manifestó que no le pareció un producto agradable.

		Frecuencia	Porcentaje
Sujetos	No me gusta	11	10,0
	Ni me gusta ni me disgusta	8	7,3
	Me gusta	18	16,4
	Me gusta mucho	73	66,4
	Total	110	100,0

Tabla 38. Distribución de los sujetos pertenecientes al estudio respecto a la valoración obtenida de la agradabilidad del producto.

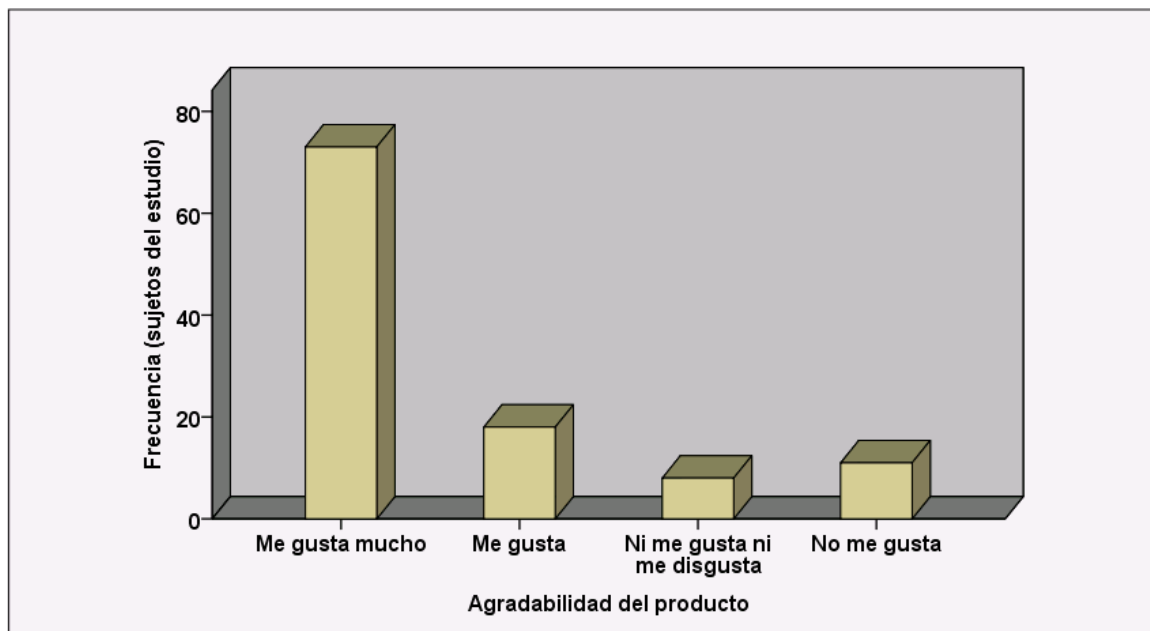


Figura 31. Evaluación subjetiva de la agradabilidad del producto por parte de los sujetos del estudio a los 18 meses. Frecuencia relativa en escala de nivel de satisfacción (n=110).

8.3.9.4. Color del producto

Respecto al color del producto, el 77,3% opinó que le gusta mucho, el 14,5% opinó que le gusta, el 4,5% consideró que ni le gusta ni le disgusta, y el 3,6% manifestó que no le gustó el color del producto.

		Frecuencia	Porcentaje
Sujetos	No me gusta	4	3,6
	Ni me gusta ni me disgusta	5	4,5
	Me gusta	16	14,5
	Me gusta mucho	85	77,3
	Total	110	100,0

Tabla 39. Distribución de los sujetos pertenecientes al estudio respecto a la valoración obtenida del color del producto.

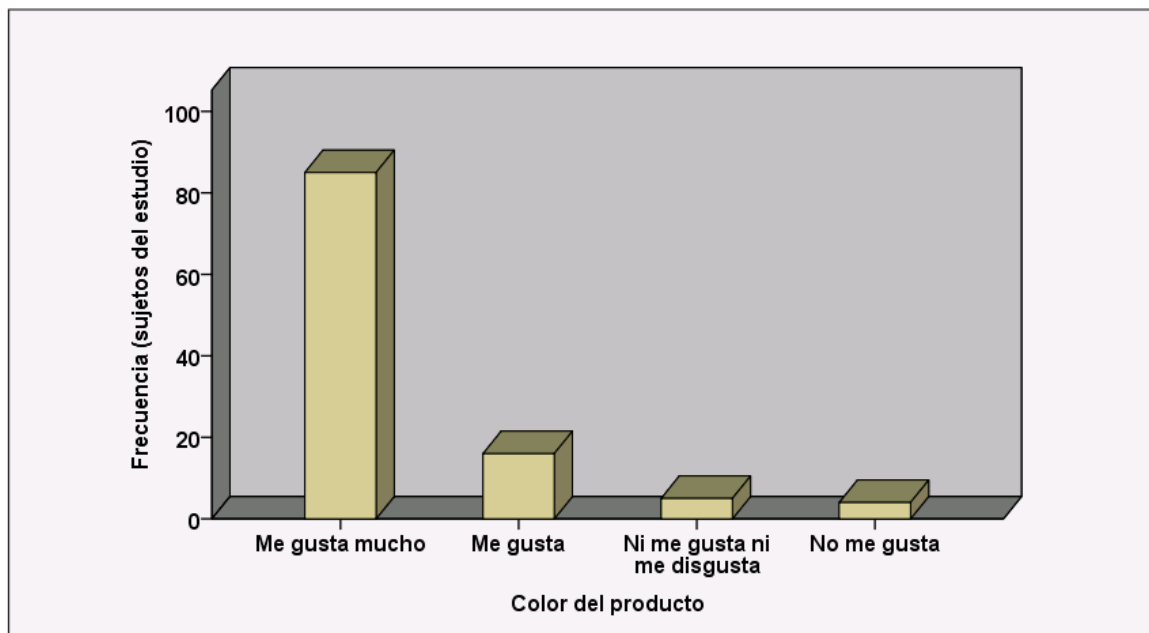


Figura 32. Evaluación subjetiva del color del producto por parte de los sujetos del estudio a los 18 meses. Frecuencia relativa en escala de nivel de satisfacción (n=110).

8.3.9.5. Sabor del producto

Respecto al sabor del producto, el 71,8% opinó que le gusta mucho, el 16,4% opinó que le gusta, el 5,5% consideró que ni le gusta ni le disgusta, y el 6,4% manifestó que no le gustó el sabor del producto.

		Frecuencia	Porcentaje
Válidos	No me gusta	7	6,4
	Ni me gusta ni me disgusta	6	5,5
	Me gusta	18	16,4
	Me gusta mucho	79	71,8
	Total	110	100,0

Tabla 40. Distribución de los sujetos pertenecientes al estudio respecto a la valoración obtenida del sabor del producto.

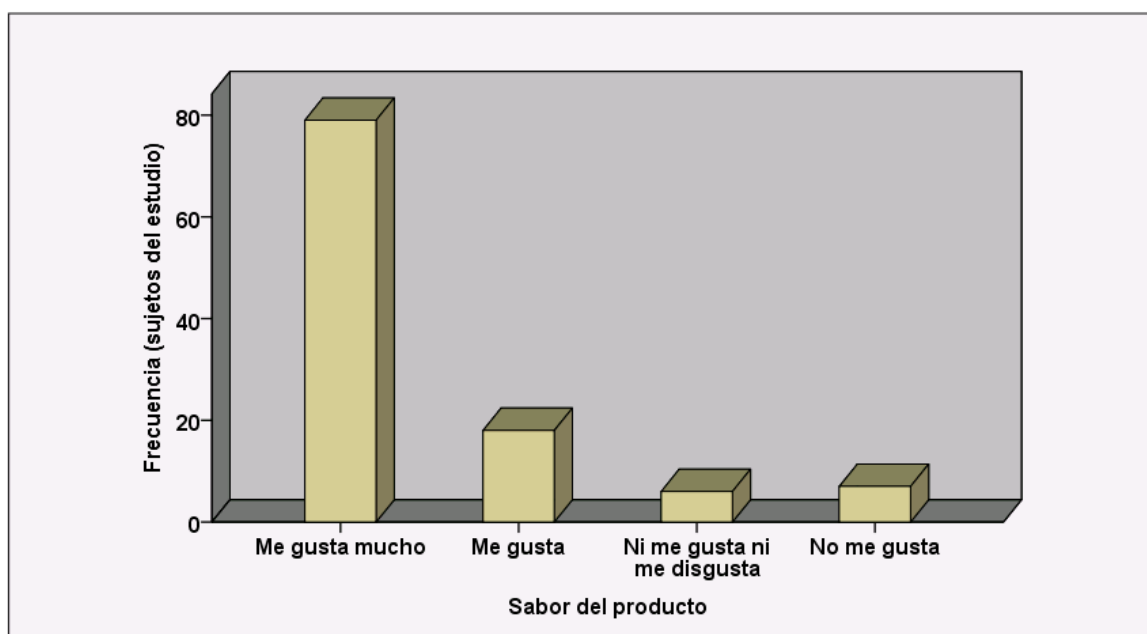


Figura 33. Evaluación subjetiva del sabor del producto por parte de los sujetos del estudio a los 18 meses. Frecuencia relativa en escala de nivel de satisfacción (n=110).

8.3.9.6. Opinión del consumidor. Predisposición a comprar el producto.

La predisposición de los sujetos a estudio a comprar el producto fue, el 74,5% opinó que lo compraría, el 4,5% opinó que probablemente lo compraría, el 0,9% consideró que probablemente no lo compraría, y el 20% manifestó que no lo compraría.

		Frecuencia	Porcentaje
Sujetos	No lo compraría	22	20,0
	Probablemente no lo compraría	1	,9
	Probablemente lo compraría	5	4,5
	Lo compraría	82	74,5
	Total	110	100,0

Tabla 41. Distribución de los sujetos pertenecientes al estudio respecto a la valoración obtenida sobre la predisposición a comprar el producto.

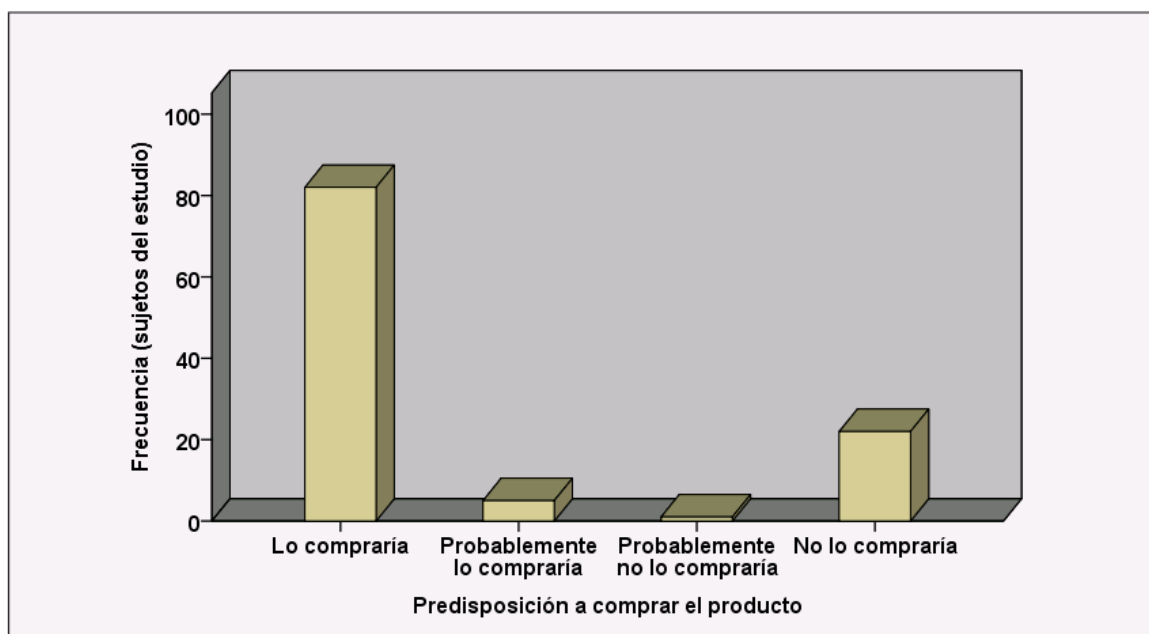


Figura 34. Evaluación subjetiva sobre la predisposición a comprar el producto por parte de los sujetos del estudio a los 18 meses. Frecuencia relativa en escala de nivel de satisfacción (n=110).

8.4. ANÁLISIS DE SEGURIDAD

8.4.1. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

El seguimiento de los sujetos se realizó desde el mes 0 al mes 18, durando la toma de producto 18 meses. Durante este periodo se registraron los detalles de cualquier acontecimiento adverso que pudo surgir.

Estos detalles incluyen la intensidad, la gravedad, la relación con la toma de producto, tiempo que tomó producto y la acción correctora. La tabla de la siguiente página muestra los acontecimientos adversos que aparecieron y las características de cada uno de ellos. Se han recogido 14 acontecimientos adversos, 3 de ellos consumían producto “calnat48”, 7 consumían “caldob54” y 4 consumían “calact60”.

El acontecimiento adverso observado que se relacionó con el consumo del producto fue piedras en el riñón, colon irritable, intolerancia a la lactosa y mala digestión del producto.

8.4.2. VARIABLES BIOQUÍMICAS DE SEGURIDAD

No se han producido modificaciones en el hemograma, perfil sérico hepático y perfil sérico renal durante los 18 meses de seguimiento en ninguno de los individuos que han participado en este estudio por lo que se puede afirmar que la ingesta de este producto es segura.

Sujeto	AA	Producto	Intensidad	Gravedad	Relación con la toma de producto	Tiempo ingesta producto	Acción
OST 017	Embarazo	Calact60	Leve	No	No	9 meses	Cese de toma de producto
OST 035	Embarazo	Calact60	Leve	No	No	9 meses	Cese de toma de producto
OST 119	Embarazo	Calnat48	Leve	No	No	18 meses	Cese de toma de producto
OST 155	Embarazo	Calnat48	Leve	No	No	15 meses	Cese de toma de producto
OST 158	Embarazo	Calact60	Leve	No	No	12 meses	Cese de toma de producto
OST 181	Embarazo	Calact60	Leve	No	No	14 meses	Cese de toma de producto
OST 117	Litiasis renal	Calnat48	Leve	No	Poco probable	9 meses	Cese de toma de producto
OST 116	Intolerancia lactosa	Caldob54	Leve	No	Probable	10 meses	Cese de toma de producto
OST 004	Colon irritable	Caldob54	Leve	No	Probable	6 meses	Cese de toma de producto
OST 101	Ovariectomía	Caldob54	Leve	No	No	7 meses	Cese de toma de producto
OST 032	Mala digestión del producto	Caldob54	Leve	No	Probable	3 meses	Cese de toma de producto
OST 081	Mala digestión del producto	Caldob54	Leve	No	Probable	2 meses	Cese de toma de producto
OST 136	Mala digestión del producto	Caldob54	Leve	No	Probable	10 meses	Cese de toma de producto
OST 113	Mala digestión del producto	Caldob54	Leve	No	Probable	10 meses	Cese de toma de producto

Tabla 42 Acontecimientos adversos aparecidos y características de cada uno de ellos.

9. DISCUSIÓN

La osteoporosis es una enfermedad ósea metabólica definida en la Conferencia de Consenso de Hong-Kong (1993) como una enfermedad generalizada caracterizada por una disminución de la masa ósea y una alteración de la microarquitectura del tejido óseo que conduce a un aumento de la fragilidad del hueso y, como consecuencia, a un incremento del riesgo de fractura (211).

La osteoporosis es una “enfermedad silenciosa” que se hace aparente en el momento en que se manifiestan sus complicaciones. Entre ellas, la que genera un mayor problema socio-sanitario y el más importante consumo de recursos es la fractura por fragilidad. La osteoporosis puede prevenirse y debe ser diagnosticada y tratada preferentemente antes de la aparición de sus consecuencias, que se asocian con dolor, limitación funcional, dependencia e incluso con el fallecimiento del paciente, además de implicar un coste económico considerable (212).

Según los criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (213), aproximadamente el 6% de los varones y el 21% de las mujeres entre 50 y 84 años sufren osteoporosis. Atendiendo a los datos de población de 2010, en la Unión Europea estos porcentajes representarían un total de 5,5 millones de hombres y 22 millones de mujeres. La osteoporosis es causa directa de 8,9 millones de fracturas por fragilidad/año en todo el mundo, de las cuales La tercera parte, 3,5 millones, ocurre en Europa. De ellas, 610.000 afectan al tercio proximal de fémur, 520.000 son vertebrales y 560.000 de antebrazo. Anualmente se producen 43.000 fallecimientos causados directamente por una fractura osteoporótica, el 50% de ellos por una fractura de fémur proximal. El coste económico de las fracturas por fragilidad en 2010 en la Unión Europea se estimó en 378 millones de euros: el 66% en fracturas incidentes, 29% en cuidados a largo plazo de fracturas prevalentes, y el 5% en prevención farmacológica. El 54% del importe se invirtió en fracturas de fémur. Asimismo, en Europa las fracturas por osteoporosis suponen casi 2 millones de años de vida ajustados por discapacidad.

En España la osteoporosis afecta al 5,4% de la población total, el 6,8% de los hombres y el 22,6% de las mujeres mayores de 50 años: en números absolutos un total de 2.449.355 sujetos en 2010. La incidencia de fractura de fémur es de 91/100.000/año en población total, 250/100.000/año en mayores de 50 años (353 en mujeres, 126 en hombres). El coste económico en 2010 alcanzó los 2.842 millones de euros. Se estima que el número de fracturas sufrirá un incremento del 28%, pasando de los 3,5 millones/ año de 2010 a 4,5 millones/año en 2025, con un aumento casi paralelo de los costes (214).

El objetivo principal del tratamiento farmacológico es disminuir el riesgo de sufrir una fractura por fragilidad. Sin embargo, la mayoría de la población en riesgo o que ya ha sufrido una fractura osteoporótica no sigue tratamiento. A pesar del elevado coste sanitario, social y económico de la osteoporosis, existe una laguna en el campo de la terapéutica motivada tanto por un déficit de prescripción como por un mal cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes: se sabe que un 50% no sigue la pauta prescrita o la abandona durante el primer año (215-217).

En 2004 las autoridades sanitarias americanas emitieron un informe al respecto, reseñando como el médico debe ser proactivo, especialmente en la prevención secundaria de las fracturas osteoporóticas: debe prescribir vitamina D y calcio, recomendar al paciente medidas generales de eficacia demostrada (actividad física regular, medidas de prevención de caídas, abandono del tabaco y reducción de consumo de alcohol y cafeína) y remitirlo con un informe a unidades específicas donde se valore su osteoporosis en el contexto de su comorbilidad y se indique el tratamiento específico más adecuado (215).

Las guías de práctica clínica establecen además claramente que la osteoporosis puede prevenirse, diagnosticarse y tratarse antes de que aparezcan las fracturas, tarea que recaería principalmente en atención primaria. Es preciso tener en cuenta que el perfil del paciente ha cambiado: en la actualidad la proporción de individuos informados o que exigen información sobre su enfermedad es elevada, y se espera un aumento progresivo de los que quieran tener un papel activo en la toma de decisiones.

En el año 2011 el Instituto de Medicina (IOM), en Estados Unidos, sugirió que la ingestión de calcio sea de 700 mg de calcio elemental para la población de 1 a 3 años de edad, de 1000 mg para los niños de 4 a 8 años, de 1300 mg para la población de 9 a 18 años y de 1000 mg para los adultos de 19 a 50 años. Para la población de mujeres de 51 a 70 años, la recomendación es de 1200 mg, mientras que para los hombres del mismo grupo de edad es de 1000 mg; para las personas de ambos sexos de edad igual o mayor a 71 años, la ingestión recomendada es de 1200 mg (218). En general los lácteos son la principal fuente de calcio en la dieta. Una ración de lácteos (250 ml leche o 30 g queso) contiene 300 mg de calcio elemental; un yogur contiene entre 200 y 300 mg calcio elemental; la dieta sin lácteos contiene entre 200 y 400 mg de calcio elemental por día. Así, una persona que diariamente consume un vaso de 250 ml de leche y alrededor de 30 g de queso, tiene una ingestión estimada de calcio elemental de entre 800 y 1000 mg de calcio elemental (una ración de leche, una de queso y los 200 a 400 mg de calcio elemental en la dieta sin lácteos).

Los alimentos son la mejor fuente de calcio; de ellos los lácteos son la mejor fuente de calcio de la dieta occidental. Es recomendable usar suplementos de calcio sólo cuando una persona no pueda consumir el calcio suficiente en la dieta. La absorción del calcio en la dieta depende, en cierta medida, de los otros componentes alimentarios; así, el oxalato y los fitatos disminuyen la absorción del calcio. Asimismo, tanto lactosa como ciertos péptidos fosfocaseínicos formados durante la digestión de caseínas de la leche facilitan también la absorción de calcio. En general, los humanos absorben alrededor de 30% del calcio presente en los alimentos, dependiendo de la matriz donde se encuentre. El efecto de la ingestión de calcio en la dieta es relativamente pequeño, aunque significativo, en el tejido óseo. En la práctica, los ensayos de intervención prospectivos con medidas dietéticas con el tiempo suficiente de seguimiento son más difíciles de realizar que con suplementos ya que uno de los puntos más difíciles de estimar con exactitud es la ingestión alimentaria a largo plazo; de ahí que sean pocos los estudios de asociación publicados de este género.

De los estudios en mujeres premenopáusicas, mientras que algunos han demostrado beneficios con la ingestión de calcio (219,220), otros no los han confirmado (221). Parece existir un umbral en la ingestión de calcio –reflejada finalmente en su absorción intestinal– en este grupo de edad: una ingestión muy baja de calcio se asocia a densidad ósea baja, mientras que una ingestión por encima de la normal no muestra algún beneficio. En los primeros años después de la menopausia no se demuestra una relación entre la ingestión de calcio y la densidad ósea, probablemente porque dicha pérdida está determinada principalmente por la falta de estrógenos. Una revisión de 2009 prueba que la mayoría de los estudios observacionales y que todos los ensayos de intervención con productos lácteos mostraron una asociación positiva con la densidad mineral ósea (DMO) o con el contenido mineral óseo (CMO) (222).

El demostrar una asociación sólida entre la ingesta de calcio y la disminución en el riesgo de fracturas es aún más difícil que la posible asociación entre la ingesta de calcio y la densidad ósea. Un estudio longitudinal y prospectivo de cohorte realizado en 5.022 mujeres de una cohorte de 61.433 personas mostró que una ingesta baja de calcio se asoció con un aumento en el riesgo de fractura de cadera, pero no se encontró que la ingesta superior a la normal se asociara a protección (223).

Un meta análisis de los estudios de seguimiento no pudo demostrar una asociación significativa entre la ingesta de calcio y la incidencia de fractura de cadera (224). Un estudio prospectivo de seguimiento en personas de edad avanzada encontró que una ingesta alta de calcio disminuye el riesgo de fractura de cadera; se utilizó un cuestionario de dieta de 24 horas en 957 personas de ambos sexos, de 50 a 79 años; en el seguimiento de 12 a 16 años se observó que el riesgo de fractura de cadera estaba asociado inversamente con la ingesta de calcio en la dieta; en el seguimiento a 18 años de un subgrupo más pequeño se encontró que los valores de densidad ósea en la cadera ajustados por la edad, eran mayores en el grupo en el tercil más alto de ingesta de calcio en mujeres, pero no en hombres (225).

Los productos lácteos constituyen aproximadamente el 60% del consumo de calcio en la dieta en el caso de Estados Unidos. El calcio en los productos lácteos se absorbe bien (22 a 27%), a tal grado que se puede observar supresión en la secreción de hormona paratiroidea (PTH) inmediatamente después, misma que se sostiene y dura varias horas (226). Debe tomarse en cuenta que los productos lácteos también contienen proteínas y fósforo, y que el contenido de calcio es igual en la leche entera y en la leche con bajo contenido de grasa; lo mismo puede decirse del yogur.

En adultos, la suplementación con productos lácteos se asoció con una mayor masa ósea en cadera en hombres y con menor pérdida ósea en hombres y mujeres en un estudio longitudinal (227); en otro estudio esta intervención disminuyó la pérdida ósea en mujeres premenopáusicas (228).

La ingestión de lácteos tiene efectos en la densidad ósea también en la población de edad avanzada. En un estudio australiano con 10 años de seguimiento realizado en personas mayores de 80 años, el tercil con la mayor ingestión de calcio tuvo valores de densidad ósea 6-7% más altos que el tercil más bajo. Algunos estudios han demostrado que la ingestión de leche inhibe el remodelamiento óseo en mujeres postmenopáusicas y hombres de edad avanzada, además de aumentar la concentración de IGF-1 (229,230).

Un estudio transversal realizado en mujeres mostró que la ingestión de leche durante la adolescencia se asoció con mayor densidad ósea corporal total en la edad adulta joven, mientras que la ingestión de calcio en el momento actual puede influir en el contenido mineral óseo de la columna (231). Varios estudios transversales han confirmado que la ingestión regular de leche durante el crecimiento se asocia con valores de densidad ósea mayores en la vida adulta y la etapa postmenopáusica, posiblemente por haber alcanzado una mayor masa ósea pico o porque la ingestión habitual de productos lácteos durante la niñez llega a ser un hábito permanente. La ingestión baja de leche durante la niñez se asocia con menor densidad ósea y huesos más pequeños.

En un estudio de las encuestas NHANES, las mujeres con baja ingestión de calcio durante la niñez y la adolescencia tuvieron menor masa ósea en la vida adulta y un aumento en el riesgo de fracturas (232). Se ha sugerido también que la alergia a la leche que conlleva obviamente a una ingestión baja de la misma (y, casi siempre en consecuencia, de calcio), se asocia con valores de densidad ósea bajos. Se han realizado estudios de intervención con leche en su forma líquida o en polvo. Un estudio muy antiguo realizado en niños británicos mostró que el grupo que recibió suplementación con leche alcanzó tallas mayores que un grupo no suplementado; debe tomarse en cuenta que en ello puede haber influido el efecto de las proteínas.

En otro estudio que incluyó mujeres adolescentes, la suplementación con 300 ml de leche durante 18 meses favoreció el incremento en la densidad ósea (233). En un estudio realizado en la infancia temprana se comparó la suplementación con calcio mediante productos lácteos o zumo de naranja, y se concluyó que el calcio corporal total fue mayor en el grupo que recibió lácteos. En China, donde la ingestión de calcio es

relativamente baja, el efecto positivo de la ingestión de leche durante dos años se perdió a los tres años de suspender la suplementación debido a que la ingestión de calcio disminuyó a los valores bajos iniciales (234).

Es de suponer que la ingestión de leche tiene un mayor efecto positivo en la salud ósea que la sola suplementación con calcio, ya que los otros nutrientes, incluidas las proteínas, tienen también efectos favorables en el esqueleto; de hecho, no sólo la caseína sino también las proteínas del suero de leche tienen un efecto positivo en el metabolismo y la masa óseas (235). Las proteínas de la leche también intervienen en la absorción de calcio; de hecho, un estudio comprobó que el calcio adicionado a la «leche de soja» tiene una eficacia observada del 75% en comparación con el de la leche de vaca (236).

En cuanto al efecto del consumo de lácteos en la densidad ósea, se ha observado que la ingestión regular de leche durante toda la vida se asocia con mayores valores de densidad ósea en hueso cortical y trabecular y de masa ósea en radio en mujeres caucásicas de edad avanzada. No obstante, la ingestión actual de leche en adultos correlaciona débilmente con la densidad ósea en cuello femoral.

Los resultados más significativos se encuentran probablemente en las poblaciones con una ingestión muy baja de calcio. Un estudio en China en el que se suplementó durante tres años con leche en polvo adicionada con calcio a mujeres postmenopáusicas encontró una disminución sustancial de la pérdida ósea (237). Resultados semejantes se observaron en mujeres postmenopáusicas en Malasia (238).

El Nurse's Health Study, uno de los estudios con seguimiento más largo en mujeres postmenopáusicas, no mostró asociación entre el consumo de leche y la incidencia de fracturas (239).

Un meta análisis de los seis estudios prospectivos de cohorte en mujeres no mostró asociación entre la ingestión total de leche y el riesgo de fractura de cadera; en los tres estudios en hombres el riesgo relativo por un vaso diario de leche fue de 0.91 (IC 95%: 0.81-1.01) (214); no está de más recordar que puede haber diferencias en la calidad de las estimaciones nutricionales. En un estudio en el que mujeres postmenopáusicas consumieron leche adicionada de calcio durante dos años se observó un retraso en la pérdida ósea y una disminución en los marcadores de resorción ósea.

En cuanto al yogur, el estudio Framingham Offspring Study of adults, de diseño observacional, encontró que los participantes que tomaban más de 4 raciones de yogur por semana tuvieron una mayor densidad ósea en trocánter, aunque la asociación con la densidad ósea en el cuello del fémur no alcanzó significancia estadística ($p = 0,09$) (240). Un estudio pequeño en mujeres postmenopáusicas con ingestión de calcio menor a 600 mg por día mostró que tres raciones de yogur diarias disminuyeron los valores de N-telopéptidos (marcadores de resorción ósea) un 22% con respecto a las mujeres que consumieron una colación control (241).

Algunos estudios han evaluado específicamente el efecto en hueso del aumento en el consumo de calcio mediante la ingestión de queso. Uno de ellos mostró que el queso tuvo un mayor efecto positivo que las tabletas de calcio y vitamina D (242). En otro estudio, igualmente en niñas prepuberales, la ingestión de queso pareció ser más eficaz en la acumulación de hueso que la ingestión de suplementos equivalentes de calcio o calcio más vitamina D (243).

El agua mineral puede contener hasta 500 mg calcio/l. Un estudio transversal sugirió que tiene efectos benéficos en la densidad ósea. Además, en un estudio de seguimiento, la ingestión de agua mineral rica en calcio disminuyó la pérdida de masa ósea en radio distal en mujeres postmenopáusicas durante alrededor de un año. El agua mineral puede ser fuente de cargas alcalinas, con posibles efectos benéficos en hueso; el

agua mineral rica en bicarbonato y en calcio (que no se encuentra ampliamente disponible) disminuye los marcadores de resorción ósea aún en condiciones de suficiencia de calcio, en las que la ingestión de agua mineral rica sólo en calcio no tiene efecto.

Las verduras como fuente de calcio en la dieta pueden tener eficacia variable; las espinacas contienen gran cantidad de calcio, pero su alto contenido de oxalato reduce la absorción de calcio a sólo el 5.1%, mientras que el brócoli es rico en calcio y contiene poco oxalato, lo que explica su alta tasa de absorción del calcio (40.9%), que es aún mayor que la de la leche (32,1%).

La leche de soja tiene bajo contenido de calcio, por lo que frecuentemente se adiciona con dicho nutrimento inorgánico. El consumo de leche de soja adicionada se ha asociado con un menor riesgo de osteoporosis, a un grado semejante al logrado con la ingestión de lácteos. Debido a que los productos hechos de soja como el mismo tofu tienen un contenido variable de calcio y de oxalato, su utilidad en la salud ósea debe verificarse para cada producto comercial disponible.

En un estudio en niñas prepuberales con ingestión habitual baja, la adición de calcio a los productos alimenticios estimuló el aumento del contenido mineral óseo y el crecimiento longitudinal. La protección de la pérdida de densidad ósea y del contenido mineral óseo depende de la dosis de ingestión de calcio, y ésta se logra con una dosis de 1,000- 1,100 mg calcio (244), según se demostró en un estudio realizado en mujeres jóvenes que tomaban anticonceptivos.

Si los productos alimenticios se adicionan también con vitamina D, resulta difícil estimar la contribución aislada del calcio.

En términos generales, los estudios transversales, longitudinales y algunos de intervención con calcio han mostrado efectos benéficos en el metabolismo óseo, densidad ósea y pérdida ósea; en cuanto a fracturas, resulta menos claro el beneficio; en el caso de la leche, su papel benéfico es plausible pero aún no se ha comprobado (245). La National Osteoporosis Foundation (NOF) de Estados Unidos realizó recientemente un meta análisis de los estudios aleatorizados y controlados publicados desde el año 2000 (246). La búsqueda identificó 16 estudios que incluyeron un total de 3.077 individuos; se analizaron también otros cinco estudios que evaluaron la ingestión de calcio y la actividad física. De los 16 estudios que evaluaron la suplementación con calcio, nueve emplearon tabletas deglutidas o masticables, cuatro usaron alimentos adicionados con calcio, dos utilizaron productos lácteos y uno usó una combinación de productos lácteos y tabletas. La mayoría de los estudios evaluaron los efectos de la ingestión de calcio en desenlaces de densidad ósea (contenido y densidad mineral ósea, área ósea corporal total) y tres estudios emplearon tomografía computarizada cuantitativa periférica (pQCT). Ocho de los nueve estudios aleatorizados que usaron comprimidos de calcio encontraron un efecto positivo pequeño, pero consistente, en la densidad mineral ósea o en el aumento del contenido mineral evaluados por densitometría. El beneficio del grupo suplementado comparado con el placebo varió de 0,57 a 5,80%. Ninguno de los estudios encontró un efecto significativo en todos los puntos evaluados habitualmente en densitometría (columna, cadera y radio), y los lugares específicos que se beneficiaron variaron entre los estudios. Sólo tres de los estudios aleatorizados que utilizaron DEXA arrojaron datos ajustados por el tamaño corporal, algo importante ya que el crecimiento longitudinal influye en la interpretación de los cambios en densidad ósea de área y en el contenido mineral. La diferencia en el aumento ajustado de este último por talla entre los grupos suplementados y el placebo en estos estudios varió de 0,80 a 4,60%.

Uno de los estudios más interesantes mencionados en la revisión de la NOF33 fue el realizado en gemelas de 8 a 13 años de edad; el diseño fue cegado simple; se evaluó el uso de 1200 mg carbonato de calcio o placebo durante 24 meses. La ingestión de calcio basal era de 786 mg/día en el grupo al que se suplementó calcio, y de 772 mg/día en el grupo al que se le suministró placebo (diferencia n.s.), en ambos casos valores menores que los recomendados. De los 64 pares de gemelas, 24 completaron el estudio; el cumplimiento del tratamiento (suplementación) fue de 76% en ambos grupos. Al final del estudio, el grupo suplementado con calcio ganó 3.69% más en el contenido mineral corporal total (ajustado por edad, talla y peso) que el grupo control; sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el cambio en densidad ósea en cadera total, columna o cuello femoral. En un análisis post hoc se observaron diferencias significativas en las ganancias de contenido mineral corporal total (2,47%), densidad mineral en cadera (1,64%) y densidad mineral en columna (1,64%) en el grupo con calcio después de 12 meses de suplementación. La confiabilidad de los resultados a 24 meses disminuyó por la alta tasa de abandono (63%); otro factor que pudo haber influido en los hallazgos es que las gemelas eran peripuberales, de tal manera que su estado estrogénico varió: al inicio del estudio ninguna había tenido la menarca, mientras que al final del estudio, 13 de las 48 gemelas habían tenido la menarca (5 pares concordantes y 3 discordantes).

El concepto de que la suplementación con calcio beneficia principalmente a los individuos deficientes se demuestra en un estudio realizado en Gambia, mencionado también en la excelente revisión de la NOF (247). En este estudio aleatorizado y controlado participaron 160 niños prepuberales (la mitad de cada sexo). Un grupo recibió 1000 mg carbonato de calcio y otro placebo. La ingestión basal fue de 342 mg/día, y la suplementación aumentó el contenido óseo (ajustado por talla) en la diáfisis de radio ($4,6 \pm 0,9\%$, $p < 0,0001$) y en el radio distal ($5,5 \pm 2,7\%$, $p = 0,042$).

Un estudio aleatorizado y controlado realizado en Gran Bretaña evaluó la suplementación con 1000 mg de carbonato de calcio o placebo durante 13 meses en hombres en la adolescencia tardía. A pesar de que ambos grupos tuvieron una ingestión basal de calcio alta, el grupo suplementado tuvo un incremento de aproximadamente 1% mayor en el contenido mineral de la cadera total ajustado por área ósea, peso y talla, además de mayor talla. Otros tres estudios evaluaron la combinación de calcio y dosis relativamente bajas de vitamina D en la densidad ósea de diferentes sitios; dos de los tres estudios encontraron diferencias estadísticamente significativas a favor de los grupos suplementados.

De los cuatro estudios aleatorizados y controlados que evaluaron los efectos de la adición de calcio a los productos alimenticios y bebidas, tres encontraron efectos significativos de la suplementación en la ganancia esquelética, que varió de 3,2 a 19%. En el estudio que no mostró efecto, la ingestión basal de calcio en el grupo placebo era de 1395 mg/día, lo que probablemente explica la falta de efecto. Dos estudios evaluaron la suplementación con productos lácteos.

Un estudio encontró que la suplementación con 1000 mg calcio en lácteos llevó a una ganancia 1,5% mayor en la densidad ósea de la columna que en el grupo control. En el otro estudio se aleatorizaron a niñas de 10 años a uno de tres grupos: el grupo 1 consumió 330 ml/día de leche adicionada con 560 mg calcio elemental, fósforo y proteína; el grupo 2 consumió 330 ml/día de leche y dosis de vitamina D; el grupo 3 siguió su dieta habitual. La ingestión basal de calcio era baja en los 3 grupos. Después de 24 meses, los grupos 1 y 2 lograron ganancias en el contenido óseo corporal total ajustado por tallas mayores que en el grupo control; el grupo 2 ganó más masa ósea que el grupo 1.

Un estudio que comparó la suplementación con queso y la suplementación con comprimidos de calcio encontró un efecto benéfico sólo en el grupo suplementado con queso. Tres de cuatro estudios que

evaluaron los efectos de calcio y ejercicio combinados encontraron que cada intervención por separado logra ganancias óseas menores que la combinación de las mismas.

El análisis de todos los estudios antes mencionados publicados de 2000 a la actualidad, y la observación de hallazgos positivos en el 90% de los estudios aleatorizados que usaron comprimidos de calcio, específicamente en ganancia en densidad y contenido mineral óseo, principalmente en los niños con ingestión basal baja de calcio, llevaron a la NOF a concluir que el nivel de evidencia es alto (A) con respecto al beneficio del calcio en el hueso (248).

Un estudio transversal realizado en México evaluó la asociación entre el consumo de diferentes alimentos y productos alimenticios y la densidad ósea de 6915 personas de la población urbana (249). Los hallazgos sugieren que los individuos con una dieta que incluya importantes cantidades de lácteos, pescado, mariscos y granos y con baja cantidad de granos refinados y refrescos tienen menor probabilidad de tener masa ósea baja. En contraste, el patrón dietario con alto consumo en granos refinados, azúcar y alimentos endulzados, refrescos, carnes rojas, grasas y alcohol se asoció con un mayor riesgo de masa ósea baja. Finalmente, el patrón de alimentación con alta ingestión de frutas, verduras y granos enteros se asoció con un menor riesgo de masa ósea baja. No hubo diferencias en los hallazgos al dividir a la población en dos grupos de edades (20 a 50 y mayores de 50 años), por lo que se puede concluir que los patrones mostraron las asociaciones mencionadas con la densidad mineral en todos los grupos de edad y en ambos sexos.

En la mayoría de estudios observacionales la baja ingesta de vitamina K₂ (MK-7), y altos niveles séricos de osteocalcina no carboxilada, se han asociado con un aumento del riesgo de fracturas de cadera (250-252). Por ejemplo, en el Nurses' Health Study, realizado en mujeres entre 30 y 88 años (n=72.327), con una ingesta de filoquinonas inferior a 109 µg/día, tenían un aumento del riesgo de fractura a 10 años mayor comparadas con las que tomaban un ingesta superior de filoquinona (253). De manera similar en el Framingham Heart Study, en un grupo de 888 hombres y mujeres con una edad media de 75 años y una media de ingesta de filoquinona de 56 µg/día, se observó que tenían un mayor del riesgo de fractura de cadera en los siguientes 7 años, comparados con los que ingerían una media de 254 µg/día. En este estudio no existió asociación entre la ingesta de vitamina K y la densidad mineral (254).

Aunque pocos estudios han mostrado, de manera global, asociación entre la baja ingesta de vitamina K y disminución de la densidad ósea en mujeres, hay menos evidencia entre la asociación de altos niveles de ingesta de vitamina K₁ y aumento de esta densidad en los estudios observacionales (255). Estos estudios sugieren: que una adecuada ingesta de vitamina K puede ser necesaria para reducir la reabsorción ósea; que las necesidades para mantener una adecuada salud ósea deben ser mayores que los valores de ingesta adecuada propuestos; y que, una vez que las necesidades de vitamina K para la salud ósea se alcanzan, no es necesario una ingesta adicional. Además, una limitación mayor de estos estudios es que ingestas elevadas de vitamina K₁ puede ser indicador de ingesta de alimentos que contienen otros nutrientes protectores del hueso, como el calcio, magnesio, potasio y compuestos fitoquímicos. Por ello, en base a los hallazgos de los estudios observacionales, no podemos concluir que la vitamina K, tenga un efecto protector independiente de la salud ósea.

Varios ensayos clínicos en diferentes poblaciones han examinado el efecto de la vitamina K en la densidad mineral. Dos revisiones sistemáticas y meta análisis han realizado un resumen de estos ensayos clínicos (255,256). En la revisión más reciente, publicada en 2012, Fang et al. (256) recopilan los datos de 17 ensayos con vitamina K en la población sana y en pacientes con osteoporosis primaria y secundaria mayores de 18 años. Incluyen 10 ensayos con vitamina K₂ (8 con MK-4 a dosis de 15-45 mg/día y 2 con MK-7 a dosis de 0,2-

3,6 mg/día) y 7 ensayos con vitamina K1 (0,2-10 mg/día). En el análisis general, los autores mezclaron los resultados de todos los ensayos con vitamina K y examinaron los cambios en la densidad ósea. Observaron que la suplementación con vitamina K no tenía efecto en la misma en el cuello femoral, pero aumentaba la de la columna lumbar un 1,3% (intervalo de confianza del 95% [95% CI]: 0,5-2,1) después de 6-36 meses de suplementación. En un análisis de subgrupos según la vitamina K, la vitamina K2 aumenta la densidad en la columna lumbar una media de 1,8% (95% CI: 0,9-2,8), mientras que la vitamina K1 no tiene efectos. El efecto terapéutico en densidad en la columna lumbar fue mucho mayor en las poblaciones asiáticas que en las occidentales. Sin embargo, cuando los autores excluyeron los estudios con alto riesgo de errores metodológicos por la existencia de otros factores, no encontraron efectos significativos de la vitamina K a nivel lumbar. Fang et al. advirtieron sobre los errores estimados del efecto del tratamiento en este meta análisis, debidos a las grandes diferencias de los grupos estudiados, a las diferencias en la calidad metodológica de los ensayos seleccionados y a los errores de las publicaciones.

El efecto de los suplementos de la vitamina K2 sobre las fracturas se basa en 8 ensayos clínicos realizados en pacientes japoneses con osteoporosis primaria y secundaria. Un estudio clínico aleatorizado entre 325 mujeres postmenopáusicas que recibían placebo o 45 mg/día de vitamina K2 (MK-4 o menatetrenona) durante tres años (257), valoró el contenido mineral óseo y la geometría de la cadera por DXA. Los índices de fortaleza ósea fueron calculados por DXA (densidad ósea), anchura del cuello de fémur (FNW) y longitud del eje del fémur (HAL). Se observó que la vitamina K2 no afectaba a la densidad, pero el contenido mineral y la FNW se incrementaron en relación al placebo. En el grupo tratado con vitamina K2 la fortaleza ósea de la cadera no varió, mientras que descendió significativamente en el grupo tratado. Una revisión sistemática realizada en 2006 (255) con meta análisis de 7 ensayos clínicos mostró que la suplementación con MK-4, 15-45 mg/día durante 12-24 meses, reducía significativamente las fracturas de cadera (odds ratio [OR]: 0,23, 95% CI: 0,12- 0,47), las vertebrales (OR: 0,40, 95% CI: 0,25-0,65) y las fracturas no vertebrales (OR: 0,19, 95% CI: 0,11-0,35).

Sin embargo, otro ensayo mayor, publicado en 2009 (248), aporta una conclusión diferente. Se trata de un amplio ensayo abierto en fase IV realizado con 4.378 mujeres japonesas osteoporóticas con o sin fracturas vertebrales prevalentes que recibieron durante 3 años suplementos de MK-4 y calcio, y un año de seguimiento durante el cual no se impuso ninguna restricción al uso de medicaciones para la osteoporosis. El tratamiento combinado con MK-4, 45 mg/día (dividido en tres dosis de 15 mg cada una) y calcio, o el tratamiento con calcio solo, no se asoció con cambios en la incidencia de las fracturas vertebrales a los 3 años (5,9% vs. 5,7%) ni en la incidencia de todas las fracturas clínicas a los 4 años (2,5% vs. 2,1%). Sin embargo, en uno de los 11 grupos no ajustados, en un análisis post-hoc, los investigadores encontraron una reducción estadísticamente significativa en la aparición de nuevas fracturas vertebrales, en un subgrupo de mujeres con más de 5 fracturas vertebrales prevalentes (20,3% vs. 33,2%, $p=0,03$). Más recientemente, un ensayo aleatorizado, a doble ciego, realizado en 2013 con MK-7 comparado con placebo durante 3 años en 244 mujeres holandesas postmenopáusicas sin osteoporosis, encontró una mujer con nueva fractura vertebral en el grupo MK-7 ($n=120$) y 6 en el grupo placebo ($n=124$) (259), pero eran pocas fracturas para que la diferencia fuera estadísticamente significativa entre los dos grupos.

Examinando toda la literatura publicada hasta la fecha, la suplementación con vitamina K2 puede proteger contra las fracturas pero los datos son poco consistentes. La evidencia del efecto de la suplementación con vitamina K1 en las fracturas es más limitada, y está basada principalmente en un estudio único (260), ya que el resto de los ensayos con vitamina K1 no están diseñados para analizar fracturas. Este estudio es un ensayo clínico controlado, aleatorizado, a doble ciego, realizado en 440 mujeres postmenopáusicas canadienses con

osteopenia. Muestra un efecto estadísticamente significativo con la administración de vitamina K1, 5 mg/día, en la reducción de todas las fracturas después de 2-4 años de suplementación (9 mujeres con 11 fracturas en el grupo tratado con vitamina K1 vs. 20 mujeres con 21 fracturas en el grupo placebo; (hazard ratio 0,48, 95% CI: 0,20-0,98), aunque la fractura fue un resultado secundario del ensayo.

En cuanto a los efectos de los suplementos de vitamina K asociados a otros agentes para el tratamiento de la osteoporosis, son pocos los estudios realizados para comparar los posibles efectos aditivos de la vitamina K sobre el hueso en pacientes tratados para la osteoporosis. Un grupo japonés ha estudiado (261) los efectos del risedronato, solo o asociado con vitamina K2, sobre los niveles de osteocalcina (OC) carboxilada o no carboxilada. Observaron que no había diferencia en los niveles de OC entre los grupos, pero los pacientes con fracturas vertebrales tenían niveles más altos que los pacientes sin fracturas en el grupo tratado solo con risedronato. Otro grupo de autores japoneses (262) ha estudiado el efecto del alendronato asociado o no con vitamina K2 en mujeres postmenopáusicas con artritis reumatoide. En un estudio de 62 pacientes con osteopenia u osteoporosis, aquéllas con niveles bajos de CO no carboxilada fueron tratadas con alendronato más vitamina K2, y solo con alendronato las que tenían niveles normales. Al año de tratamiento, los niveles de marcadores óseos (fosfatasa alcalina y telopéptido N terminal del colágeno I) descendieron por igual en ambos grupos. No hubo diferencia en los cambios de la masa ósea en columna lumbar entre los dos grupos, pero sí se observó un incremento significativo de la densidad en cuello femoral en el grupo suplementado con vitamina K.

Las diferencias de los hallazgos en los diversos estudios sobre el efecto de la vitamina K en la densidad mineral y las fracturas pueden ser explicadas por las diferentes formas de vitamina K utilizadas, por la ingesta basal de vitamina K de cada uno de los grupos, por el nivel de la ingesta de calcio y vitamina D en cada uno de los grupos, o por diferencias en las poblaciones estudiadas. Por ejemplo, los estudios japoneses usan como vitamina K2 la MK-4 y los estudios europeos utilizan MK-7, mientras que los estudios en Norteamérica usan principalmente vitamina K1.

Los ensayos clínicos japoneses con MK-4 tenían varios problemas en su metodología, como falta de estudios ciegos, alta tasa de abandono y falta de aleatorización. Los participantes de estos estudios eran de más edad, con osteoporosis primaria o secundaria, posiblemente con bajo niveles de vitamina D e ingesta pobre en calcio, y con un riesgo basal de fractura elevado. Por estas razones, no es posible generalizar estos resultados con los obtenidos en los ensayos con MK-4 realizados en mujeres postmenopáusicas sanas con niveles de vitamina D normales e ingesta de calcio aceptables. Además, no se han realizado estudios con suplementación con vitamina K1 en los que la fractura fuera el principal resultado a considerar. Por ello, no podemos concluir de una manera contundente sobre el efecto global de los suplementos de vitamina K en la prevención de las fracturas.

Los suplementos de vitamina K son bien tolerados y seguros en la mayoría de los casos. Algunos estudios han reportado efectos adversos de la suplementación con MK4 (menatetrenona), tales como la incidencia de lesiones cutáneas y efectos gastrointestinales menores. Unos pocos estudios han mostrado que los suplementos de vitamina K1 pueden afectar al perfil lipídico, a la sensibilidad a la insulina y a los niveles de glucemia. La vitamina K puede disminuir el efecto de los anticoagulantes como la warfarina. Las personas que toman warfarina deben ser advertidas para que eviten consumir suplementos y alimentos que contengan vitamina K. También se han descrito interacciones con antilipémicos o antidiabéticos.

Se ha propuesto que la no carboxilación de la osteocalcina afecta adversamente a la capacidad de la osteocalcina para unirse al mineral del hueso. Sin embargo, los estudios realizados en los que logran un nivel

de osteocalcina carboxilada adecuado o máximo, no se corresponden con mejoría de la DMO. Es posible que los efectos de la vitamina K en la densidad mineral sean más prominentes en las poblaciones que tienen osteoporosis o aquellas con déficit de vitamina D, ya que hay interacción entre la vitamina K y la vitamina D. Tampoco se observa efecto de la vitamina K en la densidad en los sujetos con niveles de vitamina K adecuados. Probablemente los efectos de la vitamina K en la misma sean más positivos en aquellos sujetos con déficit de vitamina K, como los malnutridos o los afectados de enfermedades que interfieren en su síntesis o absorción.

A pesar de los mínimos efectos en la densidad ósea, la vitamina K puede tener un efecto protector de las fracturas. Es posible que la vitamina K ejerza su efecto a través de la carboxilación de la proteína GLA de la matriz, efecto que puede no ser detectado a través de la medición de la densidad.

Además del papel de la vitamina K en la gamma-carboxilación, existen otros mecanismos en el hueso que son dependientes de la vitamina K y que pueden afectar el riesgo de fractura. Por ejemplo, el efecto de la vitamina K en las fracturas puede ser mediado a través de los efectos en la calidad ósea, geometría o resistencia. Serían necesarios estudios futuros para aclarar estos puntos.

En conclusión, la vitamina K es importante para la salud el hueso. Una ingesta baja de vitamina K, niveles circulantes bajos de la misma o altos niveles de osteocalcina no carboxilada se asocian con un incremento de las fracturas de cadera en los estudios observacionales. Sin embargo, los resultados de los ensayos clínicos no son concluyentes, lo que conlleva la duda de si la suplementación generalizada con vitamina K1 o K2 reduce el riesgo de fracturas vertebrales o no vertebrales. Probablemente la realización de nuevos estudios en poblaciones con bajo nivel sérico de vitamina K o ingesta baja de la misma podrán aclarar el papel de la vitamina K en la prevención de las fracturas (263).

Respecto de nuestro estudio, cabe destacar que no se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudio con respecto a las características basales y los resultados finales obtenidos lo que, de acuerdo con la bibliografía consultada, nos obliga a analizar dichos resultados al objeto de poder conocer cuáles han sido las causas de esta situación.

El diseño y los resultados de nuestro estudio se asemejan mucho al de Moschonis et al (264) que examinó si un enfoque holístico que combinaba la nutrición y el asesoramiento sobre estilo de vida junto con el consumo de leche y yogur enriquecidos con calcio, vitamina D y filoquinona (vitamina K1) o menaquinona (vitamina K2) tendría algún beneficio adicional sobre los índices de densidad mineral ósea (DMO) medida en diversos sitios del esqueleto utilizando dos técnicas diferentes, de absorciometría dual de rayos X y ecografía cuantitativa (ECU) en una muestra de 115 mujeres posmenopáusicas asignadas aleatoriamente a tres grupos de intervención, que recibieron a diario a través de leche y yogur fortificados y durante 12 meses, 800 mg de calcio y 10 mcg de vitamina D (grupo de CAD, n = 26); 800 mg de calcio, 10 mcg de vitamina D y 100 mcg de vitamina K1 (grupo CaDK1, n = 26); 800 mg de calcio, 10 mcg de vitamina D y 100 mcg de vitamina K2 (grupo CaDK2, n = 24); y un grupo de control (grupo CO, n = 39) junto con su dieta habitual. Los tres grupos de intervención asistieron a sesiones de asesoramiento de nutrición y estilo de vida cada dos semanas. La DMO total aumentó significativamente en los tres grupos de intervención y estos cambios fueron significativamente mayores en comparación con el CO ($P < 0,001$). Además, se encontró que los aumentos significativos observados para la DMO en L2-L4 en los grupos CaDK1 y CaDK2 fue significativamente mayor en comparación con la disminución observada en el CO ($P = 0,001$). No se observaron diferencias significativas para los parámetros de ECU. El enfoque combinado utilizado en el presente estudio dio lugar a cambios favorables para los tres grupos de intervención en la DMO corporal total, mientras que se observó

un beneficio adicional para la DMO en L2-L4 en los grupos CaDK1 y CaDK2. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en ninguno de los parámetros de ECU.

Kanellakis y su grupo (265) realizaron también un estudio similar cuyo objetivo fue examinar el efecto de productos lácteos enriquecidos con calcio, vitamina D y filoquinona (vitamina K1) o menaquinona-7 (vitamina K2) sobre los parámetros del metabolismo óseo en mujeres postmenopáusicas tras una intervención de 12 meses. Las mujeres posmenopáusicas se dividieron en tres grupos de intervención y un grupo control (GC). Los tres grupos de intervención asistieron a sesiones quincenales y recibieron productos lácteos fortificados que proporcionaban diariamente 800 mg de calcio y 10 mcg de vitamina D (CaD). Además, en dos de los tres grupos de intervención los productos lácteos también se enriquecieron con vitamina K, proporcionando diariamente 100 mcg de filoquinona (CaDK1) o menaquinona-7 (CaDK2). El aumento observado en los niveles séricos de 25 (OH) D en todos los grupos de intervención y el aumento observado en los niveles séricos de IGF-I en el grupo CaDK2 difirieron significativamente en comparación con los cambios observados en el GC ($P = 0,010$ y $P = 0,028$, respectivamente). Por otra parte, los grupos CaDK1 y CaDK2 tenían una media significativamente inferior de la relación ucOC/osteocalcina y en los niveles urinarios de desoxipiridinolina en comparación con los grupos CaD y GC ($P = 0,001$ y $P = 0,047$, respectivamente). Se observaron aumentos significativos en la densidad ósea del cuerpo total en todos los grupos de intervención en comparación con el GC ($P < 0,05$), mientras que se observaron aumentos significativos en la densidad de la columna lumbar sólo para CaDK1 y CaDK2 comparados con GC ($P < 0,05$).

En conclusión, el presente estudio reveló cambios más favorables en el metabolismo óseo y en los índices de masa ósea de los dos grupos suplementados con vitamina K, reflejados principalmente en la supresión de los índices séricos de remodelación ósea y en los cambios más positivos en la densidad ósea de la columna lumbar para estos dos grupos de estudio.

De acuerdo con ambos estudios, la inexistencia de diferencias entre grupos en este estudio podría ser debido, a nuestro juicio, a dos causas. La primera sería la interpretación de las variables densitométricas. Al diagnóstico de osteoporosis puede llegarse por estudio de las personas con riesgo de padecerla (presencia de factores de riesgo) o por estudio de personas que padecen una fractura. Aunque existen datos exploratorios, analíticos y radiológicos que pueden aproximar al diagnóstico, la prueba diagnóstica fundamental es la densitometría ósea. De forma general, se realiza a nivel lumbar (L1-L4 o L2-L4, según modelos) y/o femoral (el cuello, el trocánter o el triángulo de Ward, según modelos). En su evaluación, la densitometría representa buenos resultados, tanto en términos de precisión como de fiabilidad (coeficiente de variación: 0,5–3%; error de exactitud: 3–5%). Se trata de una técnica rápida y que somete al paciente a muy baja radiación (en torno al 10% de una radiografía de tórax); por el contrario, es costosa y requiere de personal especializado para su realización.

Los datos que aporta la densitometría son:

- Contenido mineral óseo: se presenta expresado en gramos.
- Densidad mineral ósea: es el parámetro más utilizado para valorar la masa ósea y se presenta expresado en gramos por centímetro cuadrado.
- T-Score: número de desviaciones estándar con respecto al valor medio de la población de 20 a 39 años del mismo sexo. De forma fisiológica, a medida que la edad del paciente va avanzado, la densidad mineral ósea va disminuyendo y la T-Score también va disminuyendo. Es decir, el

coeficiente T-Score refleja la cantidad de masa ósea que posee un individuo con respecto a la cantidad máxima de masa ósea que presenta la población a la que pertenece.

- Z-Score: número de desviaciones estándar con respecto al valor medio de la densidad mineral ósea en la población de la misma edad y sexo. De forma fisiológica este valor debe permanecer constante a lo largo del tiempo es decir las modificaciones que un individuo realiza de su densidad mineral ósea discurren de forma paralela a las modificaciones de este parámetro en la población a la que pertenece (edad y sexo).

Dado que la densidad ósea disminuye con la edad, la Z-Score (que relaciona el valor en cada persona con los individuos de su edad y sexo) complementa y relativiza (sin que por ello la sustituya) los valores de la T-Score, ya que éstos, al aumentar la edad de las personas, tienden a alejarse del valor medio.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), a través de un grupo de expertos, estableció unos criterios densitométricos que utilizan como parámetro la mencionada T-Score y que estratifican el riesgo de fractura, siendo dichos criterios los que mayoritariamente son aceptados en la actualidad. Se define como umbral de fractura el valor de densidad ósea por debajo del cual aumenta el riesgo de fractura no traumática; existiendo diversos estudios que han verificado que por cada desviación estándar que disminuye el T-Score de la masa ósea, el riesgo relativo de sufrir una fractura aumenta aproximadamente 1,5–2 veces.

Criterios de la Organización Mundial de la Salud

T-Score	Interpretación	Riesgo de fractura
Entre +1 y -1 DE	Normal	Normal
Entre -1 y -2,5 DE	Osteopenia	Doble de lo normal
< de -2,5 DE	Osteoporosis	Cuádruple de lo normal
< de -2,5 DE y presencia de fractura relacionada con fragilidad ósea	Osteoporosis establecida	Por cada DE de disminución, el riesgo se multiplica por 1,5–2
<3,5 DE	Osteoporosis severa	

No obstante, hay una clara limitación de los resultados.

En primer lugar, debe recordarse que la densitometría informa sobre la densidad mineral del hueso, pero no sobre la arquitectura de dicho hueso. En segundo lugar, hay que tener presente que la densidad ósea es diferente en cada localización, existiendo únicamente una correlación relativa entre los resultados de los diferentes puntos de medición. Ello conlleva que el resultado de una densitometría aporta información básicamente de la localización donde se realizó y que para controles evolutivos debería utilizarse siempre la misma localización. Por otra parte, dado que los resultados de la densitometría deben valorarse en términos de predicción del riesgo de fractura, debe recordarse que la densidad ósea es el principal determinante del riesgo de fracturas, pero que existen otros factores de riesgo de fractura no asociados a la densidad ósea.

En la siguiente tabla aparece un resumen de los datos densitométricos.

Variable	Producto	Columna lumbar (L2-L4)		Cuello Fémur	
		Inicial	Mes 18	Inicial	Mes 18
Contenido Mineral óseo (CMO) (g)	Calnat48	48,3±7,4	47,7±6,8	4,6±0,8	4,5±0,9
	Caldo B 54	46,1±7,2	46,7±8,8	4,3±0,8	4,3±1,0
	Calact60	44,1±7,9	44,6±7,8	4,5±1,2	4,2±0,8*
Densidad Mineral Ósea (DMO) (g/cm²)	Calnat48	1,1±0,1	1,1±0,1	1,0±0,1	,9±0,1
	Caldo B 54	1,1±0,1	1,1±0,1	,9±0,1	,9±0,1
	Calact60	1,0±0,1	1,0±0,1	,9±0,1	,9±0,1
T-Score	Calnat48	,2±1,4	,3±1,3	1,1±1,2	1,0±1,2
	Caldo B 54	,2±1,2	,3±1,4	,6±1,0	,5±1,0
	Calact60	-,1±1,4	-,0±1,5	,5±1,2	,4±1,2
Z-Score	Calnat48	,4±1,3	,5±1,2	1,3±1,2	1,2±1,2
	Caldo B 54	,4±1,2	,6±1,3	,9±1,0	,8±1,1
	Calact60	,1±1,3	,2±1,4	,7±1,2	,7±1,2

Tabla 22. Evolución temporal del Contenido Mineral Óseo, la Densidad Mineral Ósea, la puntuación T-Score y la puntuación Z-Score (media y desviación típica), entre el momento inicial y el mes 18. (* $p < 0,05$ comparado con el estado inicial).

La mayoría de ensayos clínicos referentes a la eficacia de productos sobre la prevención/tratamiento de la osteopenia/osteoporosis, utilizan el contenido mineral óseo y la densidad mineral ósea como variables principales. La mayoría de ellos presentan un periodo de seguimiento de entre 12 – 24 meses. En estos estudios, el grupo placebo suele presentar un descenso de la densidad/contenido mineral de 4-6%; la modificación de esta variable que experimentan los grupos que consumen el producto en estudio depende del tipo de producto investigado: en el caso de bifosfonatos suelen observarse incrementos significativos de estas variables y en el caso de estudios basados en incrementar ingestas de calcio y/o vitamina D (alimentos funcionales, suplementos, etc.) no suelen apreciarse modificaciones de estos parámetros con respecto al estado inicial (resultados entre descensos del 1,5% e incrementos del 1%).

El objetivo principal del presente estudio era el análisis comparativo de tres tipos de leches que se diferenciaban en los niveles de enriquecimiento con calcio y vitamina D. Al comparar entre si los tres tipos de leches atendiendo a estas variables (modificaciones de la densidad y contenido óseo durante 18 meses)

en las distintas regiones anatómicas, no observamos diferencias entre ellos, por tanto los tres tipos de leches presentan la misma eficacia en la modificación de las variables densitométricas.

Si analizamos la evolución de estas variables durante los 18 meses de ingesta, encontramos que en el caso de la densidad de la columna lumbar, no se han apreciado modificaciones y para el contenido óseo se han observado incrementos no significativos. En el resto de localizaciones anatómicas, tanto el contenido como la densidad, experimentan un descenso que oscila entre 0,5 y 1,5%. Por tanto, los resultados obtenidos en este estudio son similares a los observados en otros estudios de parecidas características es decir el consumo de leche enriquecida con cualquiera de las tres fórmulas en experimentación, consigue disminuir la pérdida de masa ósea.

El análisis de las puntuaciones T-Score y Z-Score aportan matizaciones a las conclusiones anteriores. En la región lumbar apreciamos un incremento de la puntuación T-Score no significativo y un incremento significativo de la Z-Score, es decir se ha incrementado la masa ósea con respecto a los individuos de su misma edad y sexo y ha mejorado con respecto al pico de masa ósea que presenta la población a la que pertenece esta muestra. Por tanto, para la región lumbar, los incrementos alcanzados en estas puntuaciones confirman los hallazgos realizados anteriormente al comparar estos resultados con los obtenidos en otros estudios. En la región femoral (cuello y trocánter) los resultados son distintos; la ingesta de los distintos tipos de leches no ha conseguido mejorar la masa ósea en esta región. Estos resultados son equiparables a otros estudios en los que se obtienen resultados significativos, más fácilmente, en la columna lumbar y no se aprecian cambios en la región femoral.

Por otra parte, en nuestro estudio debemos tener en cuenta las cantidades de aporte de calcio, vitamina D y vitamina K2 ya que fueron utilizados tres tipos de productos que pudiesen ser consumidos por todos los grupos etarios ("consumo familiar") y por ello las cantidades aportadas fueron menores a las de los estudios de Moschonis y Kanellakis como puede verse en la tabla siguiente.

	MOSCHONIS			KANELLAKIS			NUESTRO ESTUDIO		
	CAD	CaDK1	CaDK2	CaD	CaDK1	CaDK2	CALACT60	CALNAT48	CALDOB54
Calcio	800,00	800,00	800,00	800,00	800,00	800,00	400,00	400,00	600,00
Vitamina D	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	2,50	2,50	
Vitamina K1		100,00			100,00				
Vitamina K2			100,00			100,00		45,00	

Tabla 43. Contenidos de calcio, vitamina D y vitamina K2 en tres estudios.

Posiblemente sea esa menor fortificación la que ha favorecido la obtención de los datos reportados.

Un estudio reciente (266) examinó el efecto de diferentes cantidades de calcio añadidos a leche en polvo sobre la densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas, al objeto de determinar una dosis más adecuada de la suplementación de calcio tras 2 años de intervención, concluyendo que una dosis de 900 mg al día es considerada como el contenido más adecuado de calcio para aumentar la densidad ósea.

Los requerimientos de vitamina D se estiman en 20-25 mcg, pero pocos alimentos la contienen, y la síntesis cutánea, incluso en áreas de alta insolación, resulta insuficiente, para obtener niveles séricos de 25(OH)D [marcador del estatus corporal en vitamina D] por encima de los 30 ng/mL, necesarios para una respuesta biológica óptima en hueso y otros órganos y tejidos diana, por lo que prácticamente siempre, debe efectuarse suplementación mediante alimentos reforzados con vitamina D o vitamina D, farmacológica. La recomendación más seguida internacionalmente es aportar dosis diarias extra (fortificación) de 10 mcg (267).

En los últimos años, ha habido un creciente interés en la promoción de la salud de los huesos y la inhibición de la calcificación vascular por la vitamina K2. Esta vitamina regula la remodelación ósea, un proceso importante que implica la eliminación del hueso antiguo o dañado por los osteoclastos y su reemplazo por nuevo hueso formado por los osteoblastos. El proceso de remodelación está estrechamente regulado para evitar el desarrollo de la osteoporosis en hombres y mujeres. Las cantidades sugeridas de aporte diario de vitamina K2 siempre son mayores a 30-45 mcg (268).

10. LIMITACIONES

CALCIO

En nuestro estudio, las cantidades suplementarias de calcio con las leches utilizadas fue de 400 (Calact60 y Calnat48) o de 600 (Caldob54) miligramos por día (la leche desnatada convencional aporta 300 mg/día).

Se asume que un déficit o consumo limitado de calcio es un factor subyacente de la osteoporosis pero el efecto del calcio en la disminución del riesgo de fracturas es incierto aunque los beneficios del calcio en la salud ósea fueron revisados en un metaanálisis sobre suplementación con calcio y cómo protege contra la pérdida ósea (98). Sin embargo, esta afirmación no está del todo clara, y a menudo se observan beneficios sólo en mujeres con alta adherencia al tratamiento o en mujeres con un bajo consumo de calcio de base (113, 115, 269, 271).

Una previsible limitación de nuestro estudio podría ser la menor suplementación de calcio (y durante menos tiempo) en dos de los grupos (Calact60 y Calnat48) ya que algunos estudios solo han observado cambios significativos en la DMO tras dos años de suplementación continua y con cantidades de 500 mg/día así como una disminución significativa en los niveles de PTH, sobre todo en aquellas mujeres con niveles de vitamina D normales (272) si bien esta limitación no se ha producido pues las modificaciones en la masa ósea en nuestros tres grupos han sido similares lo que puede deberse más al incremento en los tres grupos de los niveles séricos de vitamina D que a la presencia de vitamina D en Calact60 y Calnat48 o de vitamina K en Caldob54.

El hecho de que no se produjeran cambios significativos en la DMO entre grupos puede indicar que una suplementación con 600 mg de calcio no es suficiente para conseguir aumentar la densidad ósea frente a la suplementación de 400 mg/día o bien que los grupos del estudio estaban formados por mujeres sanas, sin osteoporosis, por lo que la DMO al comienzo del estudio era normal.

VITAMINA D

En nuestro estudio, las cantidades suplementarias de vitamina D con las leches utilizadas fue de 2,5 microgramos por día (Calact60 y Calnat48) mientras que Caldob54 no fue suplementada (la leche desnatada convencional aporta trazas de esta vitamina).

El déficit de vitamina D puede disminuir la absorción intestinal del calcio (273,274) reduciendo indirectamente la formación y mineralización óseas, o conducir a un hiperparatiroidismo secundario, resultando en un incremento de la resorción ósea (275,276). A tenor de estos datos, es curioso que en nuestro estudio no se hayan evidenciado ni cambios significativos en la PTH plasmática ni diferencias significativas en la DMO en el grupo Caldob54 sin suplementación de vitamina D lo que podría deberse a que la duración del estudio lo impidió (272) o a que la cantidad recibida por la dieta habitual era suficiente (277) o a que la cantidad suplementada en Calact60 y Calnat48 no era suficiente como para ejercer cambios (278) ya que cantidades de hasta 500 mcg/semana administradas durante un año no producen cambios en la DMO (279). Otra posibilidad sería la forma de monitorizar la suplementación de vitamina D ya que en la mayoría de metaanálisis el papel de la vitamina D se juzga por la disminución del riesgo de fracturas (112,136) y hay estudios en los que la suplementación diaria con 15-20 mcg de vitamina D tenía un efecto positivo en la disminución de la incidencia de fracturas, comparándolo con suplementos de 10 mcg/día (178).

CALCIO Y VITAMINA D

Muchos de los ensayos controlados y revisiones sobre nutrición en la osteoporosis estudian intervenciones combinadas de calcio y vitamina D pues son dos nutrientes íntimamente ligados y los más influyentes en la prevención y el tratamiento de la osteoporosis al relacionarse los niveles bajos de 25(OH)D con una baja DMO si bien esta disminución del nivel de 25(OH)D no se correlaciona significativamente con un descenso en el riesgo de fracturas (269).

Una limitación de nuestro estudio podría ser el que no hayamos incluido un grupo placebo para de esta manera poder comparar los cambios en la DMO de las leches suplementadas como se demostró en el estudio de Moschonis (283) cuyo objetivo fue examinar los efectos de una intervención nutricional (suplementación mediante leche enriquecida con calcio y vitamina D) durante 30 meses en la DMO en mujeres postmenopáusicas sanas y aunque las cantidades de suplementación diaria de calcio (1.200 mg) y vitamina D (7,5-22,5 mcg) fueron mayores se evidenció una clara diferencia en la DMO frente a placebo.

Otra limitación, ya enunciada antes, podría ser la dosis elegida de suplementación, tanto de vitamina D, pues en dosis de 10-20 mcg/día administrada junto con calcio reduce la tasa de fracturas de cadera y fracturas totales independientemente de la edad, el sexo y el haber padecido fracturas anteriormente (284) como de calcio, porque la suplementación con 1.200 mg (y 20 mcg de vitamina D) constituyen el mejor tratamiento preventivo de la osteoporosis en mayores de 50 años (113) al producir un aumento de la DMO (114, 285-288) que no siempre se acompaña de la reducción de fracturas de cadera y fracturas totales (269) a pesar de que varios estudios han señalado la capacidad de la densitometría para predecir el riesgo de fracturas (289,290), su alta sensibilidad y reproducibilidad y la capacidad de monitorizar cambios en el tejido óseo (291,292). Por lo tanto, la mayoría de los estudios concuerdan con los metaanálisis y revisiones que indican que los mayores beneficios en cuanto a la reducción de fracturas y al aumento de la DMO se obtienen con dosis diarias de 1.000-1.200 mg de calcio y 17-20 mcg de vitamina D.

Por otro lado, el hecho de obtener la suplementación a partir de productos lácteos fortificados podría conducir a un incremento significativo en los niveles de magnesio y fósforo, los cuáles podrían haber contribuido igualmente a los cambios favorables en la DMO en todos los grupos de nuestro estudio (283). Además, en otros estudios se observaron mejores resultados en la dosis estándar en la relación entre el aumento de la DMO y la disminución de los marcadores de turnover óseo (278).

El grupo de edad seleccionado en nuestro estudio también podría ser otro factor limitante ya que los cambios en la DMO se han observado más cuando las mujeres seleccionadas tenían más de 70 años (293). Algunos estudios afirman que pueden ser necesarias intervenciones de 12 meses o más para apreciar cambios significativos en el estado óseo, por eso se recomienda realizar estudios de más larga duración para valorar mejor los posibles cambios en la densidad mineral ósea lo que induce a pensar que los resultados de nuestro estudio podrían haber sido diferentes prolongando el tiempo de la intervención hasta los 24 meses.

Finalmente, el hecho de participar en un estudio y obtener consejos dietéticos también parecen influir en los aumentos de la DMO al incrementar la ingesta de otros micronutrientes que influyen en el metabolismo mineral (294) y así, algunos estudios afirman que algunos alimentos, como todas las frutas y verduras en general, parece que protegen contra la pérdida de masa ósea y ayudan a neutralizar el ácido predominante en la típica dieta occidental (295,296). El papel que juegan micronutrientes como el magnesio, la vitamina K, el cobre, zinc, etc., en la salud ósea debería ser estudiado a través de ensayos controlados aleatorizados en los que se compare la suplementación con vitamina D y calcio con la suplementación con vitamina D, calcio y

alguno de los nutrientes mencionados. Estos nutrientes no tienen la importancia que puede tener el calcio o la vitamina D pero administrados junto con éstos, pueden suponer beneficios adicionales y contribuir en mayor o menor medida a la salud ósea.

VITAMINA K

En nuestro estudio, solo se suplementó con vitamina K2 la leche Caldob54 en un contenido de 45 mcg/día.

En referencia al uso de Menaquinonas, vitamina K2, suplementarias y su relación con la salud ósea, tras diversos ensayos realizados se ha determinado que esta suplementación podría llegar a proteger frente a las fracturas pero existe la necesidad de realizar estudios controlados adecuadamente y de mayor magnitud para poder establecer un relación oportuna. Este número reducido de estudios se debe, principalmente, a que este tipo de vitamina K posee un número muy limitado de fuentes de adquisición en la dieta.

Las posibles limitaciones de nuestro estudio pasarían por las cantidades utilizadas de vitamina K2 ya que el estudio prospectivo más amplio evidenciando una menor pérdida de DMO utilizó 200 mcg/día (297), cantidad sugerida también por un metaanálisis (204) aunque otros estudios han ofrecido resultados dudosos cuando la suplementación se hace con calcio durante tres años (207) o con calcio y vitamina D durante un año (298).

A nivel Europeo y según diversos estudios realizados en dos principales grupos poblacionales, mujeres postmenopáusicas y adultos mayores, sobre la influencia de diversos nutrientes añadidos a las comidas, entre los que encontramos la vitamina K, se han obtenidos resultados poco concluyentes respecto a la adición de esta vitamina (299).

11. CONCLUSIONES

- Las modificaciones de la masa ósea que produce el consumo de tres preparados lácteos enriquecidos con calcio de distintas procedencias, vitamina D y vitamina K, ingerido diariamente durante 18 meses por mujeres premenopáusicas, son similares.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, incrementa la masa ósea de la columna lumbar de mujeres premenopáusicas (mejora el contenido mineral óseo, el coeficiente T-Score y el coeficiente Z-Score, aunque significativamente sólo este último considerando el n total de todos los grupos). No ocurre lo mismo con la región anatómica del cuello y trocánter del fémur.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, no modifica los niveles séricos o urinarios de marcadores osteogénicos y osteolíticos de mujeres premenopáusicas.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, incrementa los niveles séricos de vitamina D de mujeres premenopáusicas.
- El consumo diario durante 18 meses, de cualquiera de los tres preparados lácteos en investigación, es seguro.

12. IMÁGENES

Imagen 1 - http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.2-remodelacion-osea/skinless_view

Imagen 2.- http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.2-remodelacion-osea/skinless_view

Imagen 3.- http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.2-remodelacion-osea/skinless_view

Imagen 4.- http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.3-cambios-en-el-hueso/skinless_view

Imagen 5.- <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.3-cambios-en-el-hueso>

Imagen 6.- <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Reconstruccion-osea-a-partir-de-materiales-sinteticos-e-inteligentes>

Imagen 7.- http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.5.3-hipovitaminosis-d/skinless_view

Imagen 8.- http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.5.3-hipovitaminosis-d/skinless_view

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Baron R. General principles of bone biology. En: Favus M. J. ed. Primer on the bone diseases and disorders of mineral metabolism. 5 ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research; 2003.1-8.
2. Arnett A. Estructura y remodelado del hueso. En: Riancho J. A., González Macías J. eds. Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo Editores S.A.; 2004.1-6.
3. Akkiraju H, Nohe A. Current Challenges in Bone Biology. Adv Tech Biol Med. 2015; 3(2): 132.
4. Mundy G. R., Chen D., Oyajobi D. O. Bone remodelling. En: Favus M. J. ed. Primer on the bone diseases and disorders of mineral metabolism. 5 ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research; 2003.46-58.
5. Iñiguez-Ariza NM, Clarke BL. Bone biology, signaling pathways, and therapeutic targets for osteoporosis. Maturitas. 2015; 82(2):245-55.
6. Link TM, Bauer JS. Imaging of trabecular bone structure. Semin Musculoskelet Radiol. 2002; 6(3):253-61.
7. Carballido-Gamio J, Nicolella DP. Computational anatomy in the study of bone structure. Curr Osteoporos Rep. 2013 Sep; 11(3):237-45.
8. Riancho JA, González Macías J. eds. Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo Editores S. A; 2004.
9. González Macías J, Hernández JL, Olmos JM. Risk factors for osteoporosis and osteoporotic fractures. Avd. Osteoporotic Fract. Manag. 2005; 4:2-10.
10. González Macías J, Olmos JM. Introducción: fisiopatología del remodelado óseo. En: Nogués X ed. Formadores de hueso. Barcelona: Scientific Communication Management; 2005.13-25.
11. Seeman E. Periosteal bone formation-a neglected determinant of bone strength. N. Engl. J. Med. 2003; 349:320-3.
12. Mezquita P, Muñoz M, Alonso A. Otras hormonas: hormonas tiroideas, GH, glucocorticoides. En: Riancho JA y González Macías J. eds. Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo Editores S. A; 2004. 45-48.
13. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. Curr. Opin. Rheumatol. 2003; 15:454-7.
14. Kular J, Tickner J, Chim SM, Xu J. An overview of the regulation of bone remodelling at the cellular level. Clin Biochem. 2012 Aug; 45(12):863-73.
15. Manolagas S. C. Birth and death of bone cells: basic and regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocrine Rev. 2000; 21:115-137.
16. Hofbauer LC, Henfelder AE. The role of receptor activator of nuclear factor k-B ligand and osteoprotegerin in the pathogenesis and treatment of metabolic bone diseases. J. Clin. Invest. 2000; 85:2355-2363.

17. Gutierrez G. Regulación paracrina del hueso. En: Riancho J. A., González Macías J. eds. Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo Editores S. A.; 2004.13-18.
18. Grothos S, Chen S, Wang CY, Robey PG., Shi S. Telomerase accelerates osteogenesis of bone marrow stromal cells by upregulation of the Cbfa1, osterix, and osteocalcin. J. Bone Miner. Res. 2000; 18: 716-727.
19. Munuera L, Martínez ME, Delgado A. Fisiopatología del hueso del anciano. En: Ferrández L. ed. Fracturas en el anciano. Madrid: EGRAF S.A.; 2001.23-3.
20. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, et al. Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: the Framingham cohort study. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1998; 83:4257-4262.
21. Batoon L, Millard SM, Raggatt LJ, Pettit AR. Osteomacs and Bone Regeneration. Curr Osteoporos Rep. 2017.
22. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. Endocrine Rev. 2001; 22:477-501.
23. McKane WR, Khosla S, Egan KS, Robins SP, Burritt MF, Riggs BL. Role of calcium intake in modulating age-related increases in parathyroid function and bone resorption. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1996; 81:1699-1703.
24. Torrijos A. Calcio y vitamina D. En: Díaz Curiel M. ed. Actualización de osteoporosis. Madrid: FHOEMO; 2001. 93-102.
25. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. Clin. Endocrinol. 2005; 62:265-281
26. Heaney RP. Calcium, parathyroid function, bone, and aging. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1996; 81:1697-1698.
27. Quesada JM. 25-Hidroxivitamina D y osteoporosis. Barcelona: Trajecte S.A.; 1998.
28. Quesada JM. Vitamina D. En: Riancho JA. y González Macías J. eds. Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo Editores S.A. 2004. 29-33.
29. Bischoff-Ferrari HA., Dawson-Hughes B, Willett WC, Staehelin HB, Bazemore MG, Zee RY, Wong JB. Effect of vitamin D on falls. A meta-analysis. JAMA. 2004; 291: 1999-2006.
30. Rosen CJ, Kiel DP. Age-related osteoporosis. En: Favus M. J. ed. Primer on the bone diseases and disorders of mineral metabolism. 5 ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research; 2003.89-92.
31. Karasik D, Rosen CJ, Hannan MT, Broe KE, Dawson-Hughes B, Gagnon DR, Wilson PW, Visser M, Langlois JA, Mohan S, Kiel DP. Insulin-like growth factor binding proteins 4 and 5 and bone mineral density in elderly men and women. Calcif Tissue Int. 2002; 71(4):323-8.
32. Riancho JA. Hormonas sexuales. En: Riancho JA. y González Macías J. eds. Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo Editores S. A.; 2004. 42-44.

33. Komoroski M, Azad N, Camacho P. Disorders of bone and bone mineral metabolism. *Handb Clin Neurol*. 2014; 120:865-87.
34. Rubenof R, Harris TB, Abad LW, et al. Monocyte cytokine production in elderly population: effect of age and inflammation. *J. Gerontol*. 1998; 53:M20-M26.
35. Lanyon L, Skerry T. Postmenopausal osteoporosis as a failure of bone's adaptation to functional loading: a hypothesis. *J. Bone Miner. Res*. 2001; 16:1937-1947.
36. Rubin CD. Treatment considerations in the management of age-related osteoporosis. *Am J Med Sci*. 1999 Sep; 318(3):158-70.
37. Schweser KM, Crist BD. Osteoporosis: a discussion on the past 5 years. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2017.
38. Sözen T, Özişik L, Başaran NÇ. An overview and management of osteoporosis. *Eur J Rheumatol*. 2017; 4(1):46-56.
39. WHO scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level. Summary meeting report Brussels; Belgium. 2004.
40. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, McCloskey EV, Jönsson B, Kanis JA. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos*. 2013; 8:136.
41. Li G, Thabane L, Papaioannou A, Ioannidis G, Levine MA, Adachi JD. An overview of osteoporosis and frailty in the elderly. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017 Jan 26; 18(1):46.
42. Bombak AE, Hanson HM. Qualitative Insights from the Osteoporosis Research: A Narrative Review of the Literature. *Journal of Osteoporosis*. 2016; 2016:7915041. doi:10.1155/2016/7915041.
43. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest*. 2008 Dec; 118(12):3820-8.
44. de Jongh RT, van Schoor NM, Lips P. Changes in vitamin D endocrinology during aging in adults. *Mol Cell Endocrinol*. 2017; 2017: 30332-5. doi: 10.1016/j.mce.2017.06.005.
45. Brouwer-Brolsma EM, Feskens EJ, Steegenga WT, de Groot LC. Associations of 25-hydroxyvitamin D with fasting glucose, fasting insulin, dementia and depression in European elderly: the SENECA study. *Eur J Nutr*. 2013; 52(3):917-25.
46. Gennari C. Calcium and vitamin D nutrition and bone disease of the elderly. *Public Health Nutr*. 2001 Apr; 4(2B):547-59.
47. Moreiras O, Carbajal A, Perea I, Varela MV. The influence of dietary intake and sunlight exposure on the vitamin D status in an elderly Spanish group. *Int J Vitam Nutr Res*. 1992; 62(4):303-7.
48. Brzozowska A, Enzi G, Amorin Cruz J. Medicine use and supplementation practice among participants of SENECA Study. *J Nutr Health Aging*. 2002; 6(1):34-8.

49. Haller J. The vitamin status and its adequacy in the elderly: an international overview. *Int J Vitam Nutr Res.* 1999; 69(3):160-8.
50. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA, El-Hajj Fuleihan G, Josse RG, Lips P, Morales-Torres J. IOF Committee of Scientific Advisors (CSA) Nutrition Working Group. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int.* 2009; 20(11):1807-20.
51. Bhattoa HP, Konstantynowicz J, Laszcz N, Wojcik M, Pludowski P. *Rev Endocr Metab Disord.* 2016 Dec 29. doi: 10.1007/s11154-016-9404-x
52. Tucker KL. Osteoporosis prevention and nutrition. *Curr Osteoporos Rep.* 2009; 7(4):111-7.
53. Kitchin B. Nutrition counseling for patients with osteoporosis: a personal approach. *J Clin Densitom.* 2013; 16(4):426-31.
54. Amorim Cruz JA. Nutrition and osteoporosis: facts and uncertainties about calcium and vitamin D recommendations. *Forum Nutr.* 2003; 56:178-81.
55. Prentice A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr.* 2004; 7(1A):227-43.
56. Advani S, Wimalawansa SJ. Bones and nutrition: common sense supplementation for osteoporosis. *Curr Womens Health Rep.* 2003; 3(3):187-92.
57. Prentice A. Nutrition and health of the elderly: osteoporosis. *J Nutr Health Aging.* 2002; 6(4):282-6.
58. Motszko M. Preventing osteoporosis. Lifelong nutrition and exercise habits are the most powerful weapons. *Adv Nurse Pract.* 2002; 10(7):41-3.
59. Atkinson SA, Ward WE. Clinical nutrition: 2. The role of nutrition in the prevention and treatment of adult osteoporosis. *CMAJ.* 2001; 165(11):1511-4.
60. Nordin BE, Need AG, Steurer T, Morris HA, Chatterton BE, Horowitz M. Nutrition, osteoporosis, and aging. *Ann N Y Acad Sci.* 1998; 854:336-51.
61. Lau EM, Woo J. Nutrition and osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 1998; 10(4):368-72.
62. Packard PT, Heaney RP. Medical nutrition therapy for patients with osteoporosis. *J Am Diet Assoc.* 1997; 97(4):414-7.
63. Prentice A. Is nutrition important in osteoporosis? *Proc Nutr Soc.* 1997; 56(1B):357-67.
64. Murray TM. Prevention and management of osteoporosis: consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada. 4. Calcium nutrition and osteoporosis. *CMAJ.* 1996; 155(7):935-9.
65. Binkley NC, Suttie JW. Vitamin K nutrition and osteoporosis. *J Nutr.* 1995; 125(7):1812-21.
66. Kanis JA. Calcium nutrition and its implications for osteoporosis. Part II. After menopause. *Eur J Clin Nutr.* 1994; 48(12):833-41.

67. Kanis JA. Calcium nutrition and its implications for osteoporosis. Part I. Children and healthy adults. *Eur J Clin Nutr.* 1994; 48(11):757-67.
68. Bunker VW. The role of nutrition in osteoporosis. *Br J Biomed Sci.* 1994; 51(3):228-40.
69. Heaney RP. The role of nutrition in prevention and management of osteoporosis. *Clin Obstet Gynecol.* 1987; 30(4):833-46.
70. Santora AC 2nd. Role of nutrition and exercise in osteoporosis. *Am J Med.* 1987; 82(1B):73-9.
71. Bonita R. Achieving Health Across the Life Span Third Meeting on the Global Commission on Women's Health (WHO/HPR/AHE/HPD/96.1 R.Recuperado a partir de <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=93&codcch=86>
72. Brown WV, Bays HE, La Forge R, Sikand G.JCL Roundtable: Gender differences in risk reduction with lifestyle changes. *J Clin Lipidol.* 2015; 9(4):486-95.
73. Del Amo Valero J, Llacer Gil de Ramales A. Tendencias sociodemograficas y principales causas de muerte de las mujeres en los países occidentales. *Salud y Medicina de la Mujer.* 2001.
74. Palacios S. Relationship between calcium intake and bone mass. *An Med Interna.* 1998; 15(2):61-2.
75. Zachariasen RD. Oral bone loss associated with menopause. *J Gt Houst Dent Soc.* 1999; 71(1):19-21.
76. Seeman E. Age- and menopause-related bone loss compromise cortical and trabecular microstructure. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2013; 68(10):1218-25.
77. Rizzoli R, Bischoff-Ferrari H, Dawson-Hughes B, Weaver C. Nutrition and bone health in women after the menopause. *Women's Health.* Lond: 2014; 10(6):599-608.
78. ESHRE Capri Workshop Group. Bone fractures after menopause. *Hum Reprod Update.* 2010 Nov-Dec; 16(6):761-73. doi : 10.1093/humupd/dmq008.
79. Aranceta BJ, Contreras HJ, González AM, Gracia AM, Herrera RP, de León AA et al. Alimentación, consumo y salud. Barcelona: Fundación La Caixa; 2008.
80. Ashwell M. Concepts of functional foods. ILSI Europe concise monograph series. Brussels: ILSI Europe; 2002.
81. Tapsell LC, Probst YC. Nutrition in the prevention of chronic diseases. *World Rev Nutr Diet.* 2008; 98:94-105.
82. Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB. Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *Br J Nutrition.* 1999; 81 (Suppl 1): S1-S27.
83. Martí del Moral A. Alimentos Funcionales. En: Muñoz M, Aranceta J, Guijarro JL (eds). Libro Blanco de la Alimentación de los Mayores. Madrid: Panamericana; 2004. 173-189.
84. International Food Information Council Foundation. Your Nutrition and food safety resource. IFIC, 2004.Recuperado a partir de <http://www.foodinsight.org/?page=135&v>

85. Clydesdale F. Functional foods: Opportunities and challenges. *Food Technology*. 2004; 58 (12): 35–40.
86. Hasler C, Brown A. Position of the American Dietetic Association. Functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 2009; 109 (4):735–746.
87. Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(6 Suppl):1660S-4S.
88. Salas-Salvadó J, Bonada A, Trallero R, Engràcia Saló M. *Nutrición y Dietética Clínica*. Barcelona: DOYMA; 2000.
89. Alpers H, Stenson WF, Bier DM. *Manual of nutritional therapeutics*. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
90. Hepworth K. Eating disorders today not just a girl thing. *J Christ Nurs*. 2010; 27(3):236-41.
91. Verhagen H, Vos E, Franc S, Heinonen M, van Loveren H. Status of nutrition and health claims in Europe. *Arch Biochem Biophys*. 2010; 501(1):6-15.
92. Foods Standards Agency. McCance and Widdowson's the Composition of Foods: Sixth Summary Edition. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2014
93. Agostoni C, Turck D. Is cow's milk harmful to a child's health?. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011; 53(6):594-600.
94. Drewnowski A et al. The Nutrient Rich Foods Index helps to identify healthy affordable foods. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91(S14):1095S–101S.
95. Programa PERSEO. Madrid: MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición Subdirección General de Coordinación Científica; 2007.
96. van Staveren WA, Steijns JM, de Groot LC. Dairy products as essential contributors of (micro-) nutrients in reference food patterns: an outline for elderly people. *J Am Coll Nutr*. 2008; 27(6):747S-54S.
97. Sohl E, de Jongh RT, Heijboer AC, Swart KM, Brouwer-Brolsma EM, Enneman AW, de Groot CP, van der Velde N, Dhonukshe-Rutten RA, Lips P, van Schoor NM et al. Vitamin D status is associated with physical performance: the results of three independent cohorts. *Osteoporos Int*. 2013; 24(1):187-96.
98. Shea B, Wells G, Cranney A, Zytaruk N, Robinson V, Griffith L, et al. Meta-analysis of calcium supplementation for the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004; (1):CD004526.
99. Sánchez A, Puche R, Zeni S, Oliveri B, Galich AM, Maffei L, et al. Papel del calcio y la vitamina D en la salud ósea (parte II). *REEMO*. 2003; 12(1):14-29.
100. Wadalowska L, Sobas K, Szczpanska JW, Slowinska MA, Czapka-Matyasik M, Niedzwiedzka E et al. Dairy products, dietary calcium and bone health: possibility of prevention of osteoporosis in women: the Polish experience. *Nutrients*. 2013; 16: 2684-707.

101. Ivanovich P, Fellows H, Rich C. The absorption of calcium carbonate. *Ann Intern Med.* 1967; 66:917-23.
102. Cashman KD. A prebiotic substance persistently enhances intestinal calcium absorption and increases bone mineralization in young adolescents. *Nutr Rev.* 2006; 64:189-96.
103. North American Menopause Society The role of calcium in peri- and postmenopausal women: position statement of the North American Menopause Society. *Menopause.* 2006; 13:862-77.
104. Cashman KD. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *Br J Nutr* 2002; 87:169-77.
105. European Commission Scientific Committee on Food 2. Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake level of calcium. Brussels: European Commission; 2002.
106. González MJ, Guañabens GN, Gómez AC, del Río BL, Muñoz TM, Delgado M, et al. Guías de práctica clínica en osteoporosis postmenopáusicas, glucocorticoidea y del varón. Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral. *Rev Clin Esp.* 2008; 208(2):3-13.
107. Shea B, Wells G, Cranney A, Zytaruk N, Robinson V, Griffith L, et al. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. VII. Meta-analysis of calcium supplementation for the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev.* 2002; 23:552-9.
108. Shea B, Wells G, Cranney A, Zytaruk N, Robinson V, Griffith L, et al. Osteoporosis Methodology Group; Osteoporosis Research Advisory Group. Calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; (4):CD004526.
109. Grant AM, Avenell A, Campbell MK, McDonald AM, MacLennan GS, McPherson GC, et al. Oral vitamin D3 and calcium for secondary prevention of low-trauma fractures in elderly people (Randomised Evaluation of Calcium Or vitamin D, RECORD): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2005; 365:1621-8.
110. Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, Wallace RB, Robbins J, Lewis CE, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med.* 2006; 354:669-83.
111. Prince RL, Devine A, Dhaliwal SS, Dick IM. Effects of Calcium Supplementation on Clinical Fracture and Bone Structure: Results of a 5-Year, Double-blind, PlaceboControlled Trial in Elderly Women. *Arch Intern Med.* 2006; 166:869-75.
112. Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:1415-23.
113. Tang BMP, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet.* 2007; 370:657-66.
114. Bischoff HA, Dawson-Hughes B, Baron JA, Burckhardt P, Li R, Spiegelman D, et al. Calcium intake and hip fracture risk in men and women: a metaanalysis of prospective cohort studies and randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2007; 86:1780-90.

115. Bischoff HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Fracture Prevention With Vitamin D Supplementation: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *JAMA*. 2005; 293:2257-64.
116. Lau EM, Woo J, Lam V, Hong A. Milk supplementation of the diet of postmenopausal Chinese women on a low calcium intake retards bone loss. *J Bone Miner Res*. 2001; 16:1704-9.
117. Fujita T, Fujii Y, Goto B, Miyauchi A, Takagi Y. Peripheral computed tomography (pQCT) detected short-term effect of AAACa (heated oyster shell with heated algal ingredient HAI): a double-blind comparison with CaCO₃ and placebo. *J Bone Miner Metab*. 2000; 18:212-5.
118. Fujita T, Ohue M, Fujii Y, Miyauchi A, Takagi Y. Reappraisal of Katsuragi calcium study, a prospective, double-blind, placebo-controlled study of the effect of active absorbable algal calcium (AAACa) on vertebral deformity and fracture. *J Bone Miner Metab*. 2004; 22:32-8.
119. Schaafsma A, van Doormaal JJ, Muskiet FA, Hofstede GJ, Pakan I, van der Veer E. Positive effects of a chicken eggshell powder-enriched vitamin-mineral supplement on femoral neck bone mineral density in healthy late postmenopausal Dutch women. *Br J Nutr*. 2002; 87:267-75.
120. Jensen C, Holloway L, Block G, Spiller G, Gildengorin G, Gunderson E, et al. Long-term effects of nutrient intervention on markers of bone remodeling and calciotropic hormones in late-postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2002; 75:1114- 20.
121. Karkkainen MU, Lamberg-Allardt CJ, Ahonen S, Valimaki M. Does it make a difference how and when you take your calcium? The acute effects of calcium on calcium and bone metabolism. *Am J Clin Nutr*. 2001; 74:335-42.
122. Aerssens J, Declerck K, Maeyaert B, Boonen S, Dequeker J. The effect of modifying dietary calcium intake pattern on the circadian rhythm of bone resorption. *Calcif Tissue Int*. 1999; 65:34-40.
123. Palacios S, Castelo-Branco C, Cifuentes I, von Helde S, Baro L, Tapia-Ruano C, et al. Changes in bone turnover markers after calcium-enriched milk supplementation in healthy postmenopausal women: a randomized, doubleblind, prospective clinical trial. *Menopause*. 2005; 12:63-8.
124. Bolland MJ, Barber PA, Doughty RN, Mason B, Horne A, Ames R, et al. Vascular events in healthy older women receiving calcium supplementation: randomised controlled trial. *BMJ*. 2008; 336:262-6.
125. Jones G, Winzenberg T. Cardiovascular risks of calcium supplements in women. *BMJ*. 2008; 336:226-7.
126. Orozco-López P, Zwart Salmerón M, Vilert Garrofa E, Olmos Domínguez C. INDICAD Study 2001. Predicción de la ingesta total de calcio a través del consumo de lácteos en la población adulta de España. Estudio INDICAD. *Aten Primaria*. 2004; 33:237-43.
127. Miller DD. Calcium in the diet: food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability. *Adv Food Nutr Res*. 1989; 33:103-56.
128. Bonjour JP, eds. *Nutritional Aspects of Bone Health*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry; 2003. 421-38.

129. Martínez-Ferrer A, Peris P, Reyes R, Guañabens N. Aporte de calcio, magnesio y sodio a través del agua embotellada y de las aguas de consumo público: implicaciones para la salud. *Med Clin*. 2008; 131:641-46.
130. Burckhardt P. The effect of the alkali load of mineral water on bone metabolism: interventional studies. *J Nutr*. 2008; 138:S435-7.
131. Heaney RP. Nutrition and osteoporosis. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 6th edition. Washington DC: American Society for Bone and Mineral Research; 2006.
132. Kanis JA, Burlet N, Cooper C, Delmas PD, Reginster JY, Borgstrom F, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2008; 19:399-428.
133. Reid IR, Mason B, Horne A, Ames R, Reid HE, Bava U, et al. Randomized controlled trial of calcium in healthy older women. *Am J Med*. 2006; 119:777- 85.
134. Feskanich D, Willett WC, Colditz GA. Calcium, vitamin D, milk consumption, and hip fractures: a prospective study among postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2003; 77:504- 11.
135. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84:18- 28.
136. Avenell A, Gillespie WJ, Gillespie LD, O'Connell DL. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures associated with involutional and post-menopausal osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005; 20(3): CD000227.
137. NIH State-of-the-Science Panel National Institutes of Health State-of-the-science conference statement: multivitamin/mineral supplements and chronic disease prevention. *Ann Intern Med*. 2006; 145:364-71.
138. Brown JP, Josse RG. Scientific Advisory Council of the Osteoporosis Society of Canada. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ*. 2002; 167(10):S1-S34.
139. AACE Osteoporosis Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the Prevention and Management of Postmenopausal Osteoporosis: 2001 Edition with selected updates for 2003. *Endocrine Practice*. 2003; 9:544-64.
140. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington, DC: National Academy Press; 1997.
141. National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Washington, D.C.: National Osteoporosis Foundation; 2008. Recuperado a partir de: http://www.nof.org/professionals/Clinicians_Guide.
142. Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA*. 2005; 294:2336-41.

143. Quesada Gómez JM, Mata Granados JM, Delgadillo J, Ramírez R. Low calcium intake and insufficient serum vitamin D status in treated and non-treated postmenopausal osteoporotic women in Spain. *J Bone Miner Metab.* 2007; 22:S309.
144. Úbeda N, Basagoiti M, Alonso-Aperte E, Varela MG. Hábitos alimentarios, estado nutricional y estilos de vida en una población de mujeres menopáusicas españolas. *Nutr Hosp.* 2007; 22:313-21.
145. Sosa M, Jódar E, Saavedra P, Navarro MC, Gómez de Tejada MJ, Martín A, et al. Postmenopausal Canarian women receiving oral glucocorticoids have an increased prevalence of vertebral fractures and low values of bone mineral density measured by quantitative computer tomography and dual X-ray absorptiometry, without significant changes in parathyroid hormone. *Eur J Intern Med.* 2008; 19:51-6.
146. Arana-Arri E, Gutiérrez-Ibarluzea I, Ecenarro Mugaguren A, Asua Batarrita J. Prevalence of certain osteoporosis-determining habits among post menopausal women in the Basque Country, Spain, in 2003. *Rev Esp Salud Pública.* 2007; 81:647-56.
147. Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco. Encuesta de Nutrición de la Comunidad Autónoma Vasca. Donostia: Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia; 1994.
148. Rapado A, Díaz Curiel R, Gabriel R, Segú JL, AlonsoBarajas R. Consumo de calcio a través de la ingesta de lácteos en la dieta española. *Rev Esp Enf Metab Oseas.* 1997; 6:169-74.
149. Peris P. Consumo de calcio y utilización de suplementos de calcio y vitamina D en mujeres postmenopáusicas. *Med Clin.* 1999; 111:36.
150. González-Macías J, Marín F, Vila J, Díez-Pérez A, Gimeno A, Peguenaute E, et al: Prevalencia de factores de riesgo de osteoporosis y fracturas osteoporóticas en una serie de 5.195 mujeres mayores de 65 años. *Med Clin.* 2004; 12:85-9.
151. Riancho JA, Pérez-Castrillón JL, Valero C, GonzálezMacías J. Ingesta de calcio insuficiente y fractura de cadera. *Med Clin.* 2007; 128:355.
152. Holick MF, Garabedian M. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Favus MJ, ed. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.* 6th ed. Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research; 2006. 129-37.
153. Armas LAG, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:5387-91.
154. Holick MF, Biancuzzo RM, TC Chen, Klein EK, Young A, Bibuld D, Reitz R, W et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 677-81.
155. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Editors: A Catharine Ross, Christine L Taylor, Ann L Yaktine, and Heather B Del Valle. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
156. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80: Suppl: 1689S-1696S.

157. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 289: F8-F28.
158. Mata-Granados JM, Luque de Castro MD, Quesada JM. Inappropriate serum levels of retinol, alpha-tocopherol, 25 hydroxyvitamin D3 and 24, 25 dihydroxyvitamin D3 levels in healthy Spanish adults: simultaneous assessment by HPLC. *Clin Biochem*. 2008; 4: 676-80.
159. Barger-Lux MJ, Heaney RP. Effects of above average summer sun exposure on serum 25-hydroxyvitamin D and calcium absorption. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 4952-4956.
160. Quesada JM, Jans I, Benito P, Jimenez JA, Bouillon P. Vitamin D status of elderly people in Spain. *Age and Ageing*. 1989; 18: 392-397.
161. Quesada JM, Coopmans W, Ruiz P, Aljama P, Jans I, Bouillon R. Influence of vitamin D on parathyroid function in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992; 75: 494-501.
162. Mezquita-Raya, P, Muñoz-Torres, M, Luna, JD, Luna V, Lopez-Rodriguez F, Torres-Vela E, Escobar-Jiménez F. Relation between vitamin D insufficiency, bone density, and bone metabolism in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2001; 16: 1408-1415.
163. Aguado P, del Campo MT, Garces M, Gonzalez-Casaus ML, Bernad M, Gijon Baños J, Martin Mola E, Torrijos A, Martinez ME. Low vitamin D levels in outpatient postmenopausal women from a rheumatology clinic in Madrid, Spain: Their relationship with bone mineral density. *Osteoporosis international*. 2000; 11: 739-744.
164. Lips P, Duong T, Oleksik AM, Black D, Cummings S, Cox D, et al, for the MORE Study Group. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial, *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 1212-1221.
165. Larrosa M, Gratacòs J, Vaqueiro M, Prat M, Campos F, Roqué M. Prevalencia de hipovitaminosis D en una población anciana institucionalizada. Valoración del tratamiento sustitutivo. *Med Clin*. 2001; 117: 611-614.
166. Vaqueiro M, Baré ML, Anton E, Andreu E, Gimeno C. Valoración del umbral óptimo de vitamina D en la población mayor de 64 años. *Med Clin*. 2006; 127: 648-50.
167. González-Clemente JM, Martínez-Osaba MJ, Miñarro A, Delgado MP, Mauricio D, Ribera F. Hipovitaminosis D: alta prevalencia en ancianos de Barcelona atendidos ambulatoriamente. Factores asociados. *Med Clin*. 1999; 113:641-645.
168. Gómez-Alonso C, Naves-Díaz ML, Fernández-Martín JL, Díaz-López JB, Fernández-Coto MT, Cannata-Andía JB. Vitamin D status and secondary hyperparathyroidism: The importance of 25-hydroxyvitamin D cut-off levels *Kidney International*. 2003; 63: S44-S48.
169. Pérez-Llamas F, López-Contreras María José, Blanco MJ, López-Azorín F, Zamora S, Moreiras O. Seemingly paradoxical seasonal influences on vitamin D status in nursing-home elderly people from a Mediterranean area. *Nutrition*. 2008; 24: 414-420.

170. Docio S, Riancho JA, Pérez A, Olmos JM, Amado JA, González-Macías J. Seasonal deficiency of vitamin D in children: A potential target for osteoporosis-preventing strategies? *J Bone Miner Res.* 1998; 13: 544–548.
171. Quesada JM, Mata Granados JM, Delgadillo J, Ramírez R. Low calcium intake and insufficient serum vitamin D status in treated and non-treated postmenopausal osteoporotic women in Spain. *J Bone Miner Metab.* 2007; 22: S309.
172. vd Wielen RPJ, Lowik MRH, vd Berg H, de Groot LCPGM, Haller J, Moreiras O, v Staveren WA. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet.* 1995; 346: 207–210.
173. Lips P, Hosking D, Lippuner K, Norquist JM, Eehreb L, Maalouf G, Ragi-Eis S, Chandler J. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *J Intern Med.* 2006; 260: 245–254.
174. Holick MF, Siris ES, Binkley N, Beard MK, Khan A, Katzer JT, et al. Prevalence of vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 3215-3224.
175. Lewiecki EM, Bilezikian JP, Bukata SV, Camacho P, Clarke BL, McClung MR, Miller PD, Shepherd J. Proceedings of the 2016 Santa Fe Bone Symposium: New Concepts in the Management of Osteoporosis and Metabolic Bone Diseases. *J Clin Densitom.* 2017 Apr - Jun; 20(2):134-152.
176. Rossini M, Bianchi G, Di Munno O, Giannini S, Minisola S, Sinigaglia L, Adami S. Determinants of adherence to osteoporosis treatment in clinical practice. *Osteoporosis International.* 2006; 17: 914-21.
177. Wu F, Wills K, Laslett LL, Oldenburg B, Seibel MJ, Jones G, Winzenberg T. Cut-points for associations between vitamin D status and multiple musculoskeletal outcomes in middle-aged women. *Osteoporos Int.* 2017 Feb; 28(2):505-515.
178. Bischoff HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, Orav JE, Li R, Spiegelman D, et al. Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. *J Bone Miner Res.* 2009; 24: 935-42.
179. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Hu FB, Zhang Y, Karlson EW. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged 60. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80: 752-758.
180. Muir SW, Montero-Odasso M. Effect of vitamin D supplementation on muscle strength, gait and balance in older adults: a systematic review and meta-analysis. *J Am Geriatr Soc* 2011. 59: 2291-2300.
181. Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B, Hathcock J, Giovannucci E, Willett WC. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int.* 2010; 21:1121-1132.
182. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Orav EJ, Lips P, Meunier PJ, Lyons RA, et al. A pooled analysis of vitamin D dose requirements for fracture prevention. *N Engl J Med.* 2012; 367: 40-49.
183. Avenell A, Mak JC, O'Connell D. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures in post-menopausal women and older men. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; (4):CD000227.

184. Moyer VA, U.S. Preventive Services Task Force. Vitamin D and calcium supplementation to prevent fractures in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2013; 158: 691-696.
185. Gillespie WJ, Avenell A, Henry DA, O'Connell DL, Robertson J. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures associated with involutional and post-menopausal osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001; (1):CD000227.
186. Kanis JA, Burlet N, Cooper C, Delmas PD, Reginster JY, Borgstrom F, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2008; 19:399-428.
187. Quesada JM, Díaz-Curiel M, Sosa-Henríquez M, Malouf-Sierra J, Nogues-Solan X, Gómez-Alonso C, et al. Low calcium intake and inadequate vitamin D status in postmenopausal osteoporotic women. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013; 136: 175-7.
188. Díez-Pérez A, Olmos JM, Nogués X, Sosa M, Díaz-Curiel M, Pérez-Castrillón JL. Risk factors for prediction of inadequate response to antiresorptives *J Bone Miner Res.* 2012; 27: 817-24.
189. Peris P, Martínez-Ferrer A, Monegal A, Martínez de Osaba MJ, Muxi A, Guañabens N. Hydroxyvitamin D serum levels influence adequate response to bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Bone.* 2012; 51: 54-8.
190. Garnero P. The Utility of Biomarkers in Osteoporosis Management. *Mol Diagn Ther.* 2017 Mar 7. doi: 10.1007/s40291-017-0272-1.
191. Schoppen S, Carbajal A, Pérez-Granados AM, Vivas F, Vaquero MP. Alimentos, energía y macronutrientes en mujeres postmenopáusicas de un programa de la menopausia. *Hosp Nutr.* 2005; 20: 101.
192. Beulens JW, Booth SL, van den Heuvel EG, Stoecklin E, Baka A, Vermeer C. The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *Br J Nutr.* 2013; 110:1357-8.
193. Sato T, Schurgers LJ, Uenishi K. Comparison of menaquinone-4 and menaquinone-7 bioavailability in healthy women. *Nutrition Journal.* 2012 11:93. doi:10.1186/1475-2891-11-93.
194. Booth SL, Suttie JW. Dietary intake and adequacy of vitamin K. *J Nutr.* 1998; 128:785-8.
195. Cheung AM, Tile L, Lee Y, Tomlinson G, Hawker G, Scher J, et al. Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): a randomized controlled trial. *PLoS Med.* 2008; 5:e196.
196. Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Blumberg B, Inoue S. Steroid and xenobiotic receptor SXR mediates vitamin K2-activated transcription of extracellular matrix-related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells. *J Biol Chem.* 2006; 281:16927-34.
197. Iwamoto J, Sato Y, Takeda T, Matsumoto H. High-dose vitamin K supplementation reduces fracture incidence in postmenopausal women: a review of the literature. *Nutr Res.* 2009; 29:221-8.
198. Suttie JW, Booth SL. Vitamin K. *Adv Nutr.* 2011; 2:440-1

199. Tabb MM, Sun A, Zhou G, Grün F, Errandi J, Romero K, et al. Vitamin K2 regulation of bone homeostasis is mediated by the steroid and xenobiotic receptor SXR. *J Biol Chem*. 2003; 278:43919-27.
200. Vermeer C. Vitamin K: the effect on health beyond coagulation—an overview. *Food Nutr Res* 2012; 56:5329.
201. Hodges SJ, Akesson K, Vergnaud P, Obrant K, Delmas PD. Circulating levels of vitamin K1 and K2 decreased in elderly women with hip fracture. *J Bone Miner Res*. 1993; 8:1241-5.
202. Feskanich D, Weber P, Willett WC, Rockett H, Booth SL, Colditz GA. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69:74- 9.
203. Booth SL, Tucker KL, Chen H, Hannan MT, Gagnon DR, Cupples LA, et al. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71:1201- 8.
204. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2006; 166:1256-61.
205. Fang Y, Hu C, Tao X, Wan Y, Tao F. Effect of vitamin K on bone mineral density: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Bone Miner Metab*. 2012; 30:60-8.
206. Knappen MH, Schurges LJ, Vermeer C. Vitamin K2 supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2007; 18:963-72.
207. Inoue T, Fujita T, Kishimoto H, Makino T, Nakamura T, Nakamura T, et al. Randomized controlled study on the prevention of osteoporotic fractures (OF study): a phase IV clinical study of 15-mg menatetrenone capsules. *J Bone Miner Metab*. 2009; 27:66-75.
208. Knapen MH, Drummen NE, Smit E, Vermeer C, Theuvsen E. Three-year low-dose menaquinone-7 supplementation helps decrease bone loss in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2013; 24:2499-507.
209. Natural Standard. Vitamin K Professional Monograph. Recuperado a partir de: <http://www.naturalstandard.com/databases/vitamink>.
210. Iwamoto J. Vitamin K2 therapy for postmenopausal osteoporosis. *Nutrients*. 2014; 6:1971-80.
211. Conferencia de consenso sobre prevención, diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Instituto Nacional de la Salud, USA. *Rev Esp Enf Metab Oseas*. 2000; 9: 231-239.
212. Curtis EM, Moon RJ, Harvey NC, Cooper C. Reprint of: The impact of fragility fracture and approaches to osteoporosis risk assessment worldwide. *Int J Orthop Trauma Nurs*. 2017; 26:7-17.
213. Kanis JA on behalf of the World Health Organization Scientific Group. Assessment of osteoporosis at the primary healthcare level. Technical Report. WHO Collaborating Centre, University of Sheffield, UK; 2008.
214. Hernandez JL, Olmos JM, Alonso MA, Gonzalez Fernandez CR, Martinez J, Pajaron M, et al. Trend in hip fracture epidemiology over a 14-year period in a Spanish population. *Osteoporos Int*. 2006; 17:464–470.

215. Office of the Surgeon General (US). Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Rockville (MD): Office of the Surgeon General (US); 2004. Recuperado a partir de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45513/>.
216. Compston JE, Seeman E. Compliance with osteoporosis therapy is the weakest link. *Lancet*. 2006; 368:973-4.
217. Netelenbos JC, Geusens PP, Ypma G, Buijs SJ. Adherence and profile of non-persistence in patients treated for osteoporosis a large scale, long-term retrospective study in The Netherlands. *Osteoporos Int*. 2011; 22(5):1537-46.
218. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK et al. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96:53-58.
219. Picard D, Ste-Marie LG, Carrier L, Chartrand R, Lepage R, d'Amour P. Influence of calcium intake during early adulthood on bone mineral content in premenopausal women. In: Cohn DV, Martin TJ, Meunier P (eds). *Calcium regulation and bone metabolism*. Elsevier Science Publishers BV: Amsterdam; 1987. 128-132
220. Freudenheim JL, Johnson NE, Smith EL. Relationships between usual nutrient intake and bone mineral content of women 35-36 years of age: longitudinal and cross-sectional analysis. *Am J Clin Nutr*. 1986; 44:863-76. 6.
221. Riggs BL, Wahner HW, Melton JL, Richelson LS, Judd HL, O'Fallon WM. Dietary calcium intake and rates of bone loss in women. *J Clin Invest*. 1987; 8:979-82.
222. Heaney RP. Dairy and bone health. *J Am Coll Nutr*. 2009; 28(Suppl.1): 82S-90S.
223. Warensjö E, Byberg L, Melhus H, Gedeberg R, Mallmin H, Wolk A, et al. Dietary calcium intake and risk of fracture and osteoporosis: prospective longitudinal cohort study. *Br Med J*. 2011; 342:d1473.
224. Bischoff HA, Dawson-Hughes B, Baron JA, Kanis JA, Orav EJ, Staehelin HB et al. Milk intake and risk of fracture in men and women: a metaanalysis of prospective cohort studies. *J Bone Min Res*. 2011; 26:833-9.
225. Holbrook TL, Barrett-Connor E. An 18-year prospective study of dietary calcium and bone mineral density in the hip. *Calc Tissue Int*. 1995; 56:364-7.
226. Talbot JR, Guardo P, Seccia S, Gear L, Lubary DR, Saad G et al. Calcium bioavailability and parathyroid hormone acute changes after oral intake of dairy and nondairy products in healthy volunteers. *Osteoporos Int*. 1999; 10:137-42.
227. Huncharek M, Muscat J, Kupelnick B. Impact of dairy products and dietary calcium on bone-mineral content in children: results of a metaanalysis. *Bone*. 2008; 43:312-21.
228. Chan GM, McEligott K, Mc Naught T, Gill G. Effect of dietary calcium intervention on adolescent mothers and newborns: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2006; 1808:565-71.
229. McCabe LD, Martin BR, McCabe GP, Johnston CC, Weaver CM, Peacock M. Dietary intakes affect bone density in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80:1066-74.

230. Baran DT, Sorensen A, Grimes J, Lew R, Karellas A, Johnson B et al. Dietary modification with dairy products for preventing vertebral bone loss in premenopausal women: a three year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70:264-70.
231. Bonjour JP, Brandolini-Bunlon M, Boirie Y, Morel-Laporte F, Braesco V, Bertiere MC et al. Inhibition of bone turnover by milk intake in postmenopausal women. *Br J Nutr.* 2008; 100:866-74.
232. Heaney RP, McCarron DA, Dawson-Hughes B, Oparil S, Berga SL, Stern JS et al. Dietary changes favorably affect bone remodeling in older adults. *J Am Diet Assoc.* 1999; 99:1228-33.
233. Teegarden D, Lyle RM, Proulx WR, Johnston CC, Weaver CM. Previous milk consumption is associated with greater bone density in young women. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:1014-17.
234. Kalkwarf HJ, Khoury JC, Lanphear BP. Milk intake during childhood and adolescence, adult bone density and osteoporotic fractures in US women. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77:257-5.
235. Cadogan J, Eastell R, Jones N, Barker ME. Milk intake and bone mineral acquisition in adolescent girls: randomized, controlled intervention trial. *BMJ.* 1997; 315:1255-60.
236. Zhu K, Zhang Q, Foo LH, Trube A, Ma G, Hu X et al. Growth, bone mass and vitamin D status of Chinese adolescent girls 3 years after withdrawal of milk supplementation. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83:714-21.
237. Uenishi K, Ishida H, Toba Y, Aoe S, Itabashi A, Takada Y. Milk basic protein increases bone mineral density and improves bone metabolism in healthy young women. *Osteoporosis Int.* 2007; 18:385-90.
238. Heaney RP, Dowell MS, Rafferty K, Bierman J. Bioavailability of the calcium in fortified soy imitation milk, with some observations on method. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71:1166-9.
239. Lau EMC, Lynn H, Chan YH, Woo J. Milk supplementation prevents bone loss in postmenopausal Chinese women over 3 years. *Bone.* 2002; 31:536.
240. Chee WS, Suriah AR, Chan SP, Zaitun Y, Chan YM. The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia. *Osteoporosis Int.* 2003; 14:828-34.
241. Yaegashi Y, Onoda T, Tanno K, Kuribayashi T, Sakata K, Orimo H. Association of hip fracture incidence and intake of calcium, magnesium, vitamin D, and vitamin K. *Eur J Epidemiol.* 2008; 23(3):219-25.
242. Sahni S, Tucker KL, Kiel DP, Quach L, Casey VA, Hannan MT. Milk and yogurt consumption are linked with higher bone mineral density but not with hip fracture: the Framingham Offspring Study. *Arch Osteoporosis.* 2013; 8:119.
243. Heaney RP, Rafferty K, Dowell MS. Effect of yogurt on a urinary marker of bone resorption in postmenopausal women. *J Am Diet Assoc.* 2002; 102:1672-4.
244. Vatanparast H, Baxter-Jones A, Foulkner RA, Bailey DA, Whiting SJ. Effects of calcium, dairy product and vitamin D supplementation on bone mass accrual and body composition in 10-12 year old girls: a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82:1115-26.

245. Cheng S, Lyytikäinen A, Kroger H, Lamberg-Allardt C, Alen M, Koistinen A et al. Effects of calcium, dairy product and vitamin D supplementation on bone mass accrual and body composition in 10-12-y-old girls: a 2-y randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2005; 82:1115-26.
246. Teegarden D, Legowski P, Gunther CW, McCabe GP, Peacock M, Lyle RM. Dietary calcium intake protects women consuming oral contraceptives from spine and hip bone loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 90: 5127-33.
247. Burckhardt P. Calcium revisited, part III: effect of dietary calcium on BMD and fracture risk. *BoneKey Reports* 4, article number: 708 (2015); doi:10.1038/bonekey.2015.77.
248. Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, Kalkwarf HJ, Lappe JM, Lewis R et al. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporosis Int*. 2016; 27: 1281-1386.
249. Denova-Gutiérrez E, Clark P, Tucker KL, Muñoz-Aguirre P and Salmerón J. Dietary patterns are associated with bone mineral density in an urban Mexican adult population. *Osteoporosis Int*. 2016; 27(10):3033-40.
250. Cunningham E. What Is Vitamin K2 and Does It Have an Impact on Bone Health? *J Acad Nutr Diet*. 2016; 116(5):888.
251. Vermeer C. Vitamin K: the effect on health beyond coagulation—an overview. *Food Nutr Res*. 2012; 56:5329.
252. Palermo A, Tuccinardi D, D'Onofrio L, Watanabe M, Maggi D, Maurizi AR, Greto V, Buzzetti R, Napoli N, Pozzilli P, Manfredini S. Vitamin K and osteoporosis: Myth or reality? *Metabolism*. 2017; 70:57-71.
253. Falcone TD, Kim SS, Cortazzo MH. Vitamin K: fracture prevention and beyond. *PM R*. 2011; 3(6 Suppl 1):S82-7. doi: 10.1016/j.pmrj.2011.04.008.
254. Hao G, Zhang B, Gu M, Chen C, Zhang Q, Zhang G, Cao X. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Apr; 96(17):e6725. doi: 10.1097/MD.00000000000006725
255. Veronese N, Bano G, Bertozzo G, Granziera S, Solmi M, Manzato E, Sergi G, Cohen AT, Correll CU. Vitamin K antagonists' use and fracture risk: results from a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2015; 13(9):1665-75.
256. Iwamoto J, Sato Y, Takeda T, Matsumoto H. High-dose vitamin K supplementation reduces fracture incidence in postmenopausal women: a review of the literature. *Nutr Res*. 2009; 29(4):221-8.
257. Mahdinia E, Demirci A, Berenjian A. Production and application of menaquinone-7 (vitamin K2): a new perspective. *World J Microbiol Biotechnol*. 2017; 33(1):2.
258. Lilliu H, Pamphile R, Chapuy MC, Schulten J, Arlot M, Meunier PJ. Calcium-vitamin D3 supplementation is cost-effective in hip fractures prevention. *Maturitas*. 2003; 44(4):299-305.
259. Tanaka S, Miyazaki T, Uemura Y, Miyakawa N, Gorai I, Nakamura T et al. Comparison of concurrent treatment with vitamin K (2) and risedronate compared with treatment with risedronate alone in patients

with osteoporosis: Japanese Osteoporosis Intervention Trial-03. *J Bone Miner Metab.* 2017 Jul; 35(4):385-395.

260. Stevenson M, Lloyd-Jones M, Papaioannou D. Vitamin K to prevent fractures in older women: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2009; 13(45): 1-134.

261. Kassukawa Y, Miyakoshi N, Ebina T, Aizawa T, Hongo M, Ishikawa Y, et al. Effects of risedronate alone or combined with vitamin K2 on serum undercarboxylated osteocalcin and osteocalcin levels in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2014; 32:290-7.

262. Suzuki K, Tsuji S, Fukushima Y, Nakase T, Hamada M, Tomita T, et al. Clinical results of alendronate monotherapy and combined therapy with menatetrenone (VitK2) in postmenopausal RA patients. *Mod Rheumatol.* 2013; 23:450-3.

263. Rønn SH, Harsløf T, Pedersen SB, Langdahl BL. Vitamin K2 (menaquinone-7) prevents age-related deterioration of trabecular bone microarchitecture at the tibia in postmenopausal women. *Eur J Endocrinol.* 2016; 175(6):541-549.

264. Moschonis G, Kanellakis S, Papaioannou N, Schaafsma A, Manios Y. Possible site-specific effect of an intervention combining nutrition and lifestyle counselling with consumption of fortified dairy products on bone mass: the Postmenopausal Health Study II. *J Bone Miner Metab.* 2011; 29(4):501-6.

265. Kanellakis S1, Moschonis G, Tenta R, Schaafsma A, van den Heuvel EG, Papaioannou N, Lyritis G, Manios Y. Changes in parameters of bone metabolism in postmenopausal women following a 12-month intervention period using dairy products enriched with calcium, vitamin D, and phylloquinone (vitamin K (1)) or menaquinone-7 (vitamin K (2)): the Postmenopausal Health Study II. *Calcif Tissue Int.* 2012; 90(4):251-62.

266. Chen Y, Xiao Y, Xie B, Zhang Q, Ma X, Li N, et al. Effect of Milk Powder Supplementation with Different Calcium Contents on Bone Mineral Density of Postmenopausal Women in Northern China: A Randomized Controlled Double-Blind Trial. *Calcif Tissue Int.* 2016; 98(1):60-6.

267. Navarro VC, Quesada JM. Vitamin D, determinant of bone and extrabone health. Importance of vitamin D supplementation in milk and dairy products. *Nutr Hosp.* 2015; 31 Suppl 2:18-25.

268. Myneni VD, Mezey E. Regulation of bone remodeling by vitamin K2. *Oral Dis.* 2016 Dec 14. doi: 10.1111/odi.12624.

269. Chung M, Balk EM, Brendel M, Ip S, Lau J, Lee J, et al. Vitamin D and calcium: a systematic review of health outcomes. *Evid Report Technology Assess.* 2009; 183: 1-420.

270. Spangler M, Phillips BB, Ross MB, Moores KG. Calcium supplementation in postmenopausal women to reduce the risk of osteoporotic fractures. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 2011; 68(4):309-18.

271. Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effect of calcium supplementation on hip fractures. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2008; 19(8):1119-23.

272. Chailurkit L, Saetung S, Thakkinstian A, Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R. Discrepant influence of vitamin D status on parathyroid hormone and bone mass after two years of calcium supplementation. *Clin Endocrinol*. 2010; 73(2):167-72.
273. Need AG, O'Loughlin PD, Morris HA, Coates PS, Horowitz M, Nordin BEC. Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe vitamin D deficiency. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2008; 23(11):1859-63.
274. Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr*. 2003; 22(2):142-6.
275. Kuchuk NO, van Schoor NM, Pluijm SM, Chines A, Lips P. Vitamin D status, parathyroid function, bone turnover, and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: global perspective. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2009; 24(4):693-701.
276. Brannon PM, Yetley EA, Bailey RL, Picciano MF. Overview of the conference «Vitamin D and Health in the 21st Century: an Update». *Am J Clin Nutr* 2008; 88(2):483S-490S.
277. Wamberg L, Pedersen SB, Richelsen B, Rejnmark L. The effect of high-dose vitamin D supplementation on calciotropic hormones and bone mineral density in obese subjects with low levels of circulating 25-hydroxyvitamin d: results from a randomized controlled study. *Calcif Tissue Int*. 2013; 93(1):69-77.
278. Grimnes G, Joakimsen R, Figenschau Y, Torjesen PA, Almås B, Jorde R. The effect of high-dose vitamin D on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women with low bone mass--a randomized controlled 1-year trial. *Osteoporos Int*. 2012; 23(1):201-11.
279. Jorde, R., Sneve, M., Torjesen, P.A. et al. No significant effect on bone mineral density by high doses of vitamin D3 given to overweight subjects for one year *Nutr J* (2010) 9: 1. doi:10.1186/1475-2891-9-1
280. Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin d supplementation: evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(4):1415-23.
281. Avenell A, Gillespie WJ, Gillespie LD, O'Connell DL. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures associated with involutional and post-menopausal osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005; (3):CD000227.
282. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Stuck AE, Staehelin HB, Orav EJ, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2009; 169(6):551-61.
283. Moschonis G, Katsaroli I, Lyritis GP, Manios Y. The effects of a 30-month dietary intervention on bone mineral density: the Postmenopausal Health Study. *Br J Nutr*. 2010; 104(1):100-7.
284. DIPART (Vitamin D Individual Patient Analysis of Randomized Trials) Group. Patient level pooled analysis of 68 500 patients from seven major vitamin D fracture trials in US and Europe. *BMJ*. 2010; 340:b5463.

285. Brannon PM, Yetley EA, Bailey RL, Picciano MF. Overview of the conference «Vitamin D and Health in the 21st Century: an Update». *Am J Clin Nutr* 2008; 88(2):483S - 490S.
286. Cranney A, Horsley T, O'Donnell S, Weiler H, Puil L, Ooi D, et al. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Evid ReportTechnology Assess.* 2007; 158:1-235.
287. Bischoff HA, Stähelin HB, Dick W, Akos R, Knecht M, Salis C, et al. Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2003; 18(2):343-51.
288. Broe KE, Chen TC, Weinberg J, Bischoff-Ferrari HA, Holick MF, Kiel DP. A higher dose of vitamin d reduces the risk of falls in nursing home residents: a randomized, multiple-dose study. *J Am Geriatr Soc.* 2007; 55(2):234-9.
289. Miller PD. Bone mineral density--clinical use and application. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003; 32(1):159-79.
290. Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry: scientific review. *JAMA J Am Med Assoc.* 2002; 288(15):1889-97.
291. Fogelman I, Blake GM. Different approaches to bone densitometry. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* 2000; 41(12):2015-25.
292. Glüer CC. Monitoring skeletal changes by radiological techniques. *J Am Soc Bone Miner Res.* 1999; 14(11):1952-62.
293. Verschueren SMP, Bogaerts A, Delecluse C, Claessens AL, Haentjens P, Vanderschueren D, et al. The effects of whole-body vibration training and vitamin D supplementation on muscle strength, muscle mass, and bone density in institutionalized elderly women: a 6-month randomized, controlled trial. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(1):42-9.
294. Islam MZ, Shamim AA, Viljakainen HT, Akhtaruzzaman M, Jehan AH, Khan HU, et al. Effect of vitamin D, calcium and multiple micronutrient supplementation on vitamin D and bone status in Bangladeshi premenopausal garment factory workers with hypovitaminosis D: a double-blinded, randomised, placebo-controlled 1-year intervention. *Br J Nutr.* 2010; 104(2):241-7.
295. Macdonald HM, New SA, Golden MHN, Campbell MK, Reid DM. Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence of a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and vegetable nutrients and of a detrimental effect of fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79(1):155-65.
296. Weng L, Webster TJ. Nanostructured magnesium has fewer detrimental effects on osteoblast function. *Int J Nanomedicine.* 2013; 8:1773-81.
297. Ikeda Y, Iki M, Morita A, Kajita E, Kagamimori S, Kagawa Y, et al. Intake of Fermented Soybeans, Natto, Is Associated with Reduced Bone Loss in Postmenopausal Women: Japanese Population-Based Osteoporosis. *J Nutr.* 2006; 136(5): 1323-1328.

298. Binkley N, Harke J, Krueger D, Engelke J, Vallarta-Ast N, Gemar D, Checovich M, Chappell R, Suttie J. Vitamin K treatment reduces undercarboxylated osteocalcin but does not alter bone turnover, density, or geometry in healthy postmenopausal North American women. *J Bone Miner Res.* 2009 Jun; 24(6):983-91.
299. Whiting SJ, Kohrt WM, Warren MP, Kraenzlin MI, Bonjour JP. Food fortification for bone health in adulthood: a scoping review. *Eur J Clin Nutr.* 2016; 70(10):1099-1105.

